



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS**

TESE DE DOUTORADO

**ESTUDO EXPERIMENTAL DO LIMÃO TAHITI (*Citrus latifolia* Tanaka):
CONGELAMENTO E CARACTERIZAÇÃO TERMO-FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL
DA POLPA E APROVEITAMENTO DO ALBEDO NA SÍNTESE DE PECTINASE**

KÁTIA DAVI BRITO

CAMPINA GRANDE - PB

2013

KÁTIA DAVI BRITO

**ESTUDO EXPERIMENTAL DO LIMÃO TAHITI (*Citrus latifolia* Tanaka):
CONGELAMENTO E CARACTERIZAÇÃO TERMO-FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL
DA POLPA E APROVEITAMENTO DO ALBEDO NA SÍNTESE DE PECTINASE**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Processos da
Universidade Federal de Campina
Grande – PB, como requisito parcial
para obtenção do título de Doutor em
Engenharia de Processos.

Área de concentração: Desenvolvimento de Processos.

Orientadores: Prof^ª. Dra. Líbia de Sousa Conrado Oliveira

Prof^º. Dr. Antonio Gilson Barbosa de Lima

CAMPINA GRANDE - PB

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

B862e Brito, Kátia Davi.
Estudo experimental do limão Tahiti (*Citrus latifolia Tanaka*): congelamento e caracterização termo-físico-química e sensorial da polpa e aproveitamento do albedo na síntese de pectinase / Kátia Davi Brito. – 2013. 130 f. Color.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia.

"Orientação: Prof^a. Dr^a. Líbia de Sousa Conrado Oliveira, Prof. Dr. Antonio Gilson Barbosa de Lima".

Referências.

1. Limão Tahiti. 2. Polpa Congelada. 3. Pectinase. 4. Fermentação. I. Oliveira, Líbia de Sousa Conrado. II. Lima, Antonio Gilson Barbosa de. III. Título.

CDU 634.33(043)

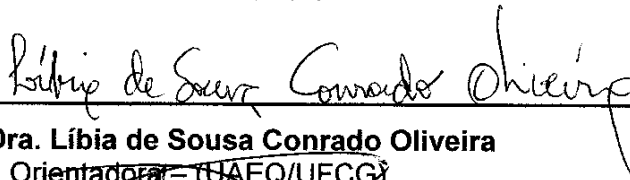
**ESTUDO EXPERIMENTAL DO LIMÃO TAHITI (*Citrus latifolia* Tanaka):
CONGELAMENTO E CARACTERIZAÇÃO TERMO-FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL
DA POLPA E APROVEITAMENTO DO ALBEDO NA SÍNTESE DE PECTINASE**

Membros da Banca Examinadora da Tese de Doutorado de **Kátia Davi Brito** apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal de Campina Grande.

Tese de Doutorado *APROVADO*

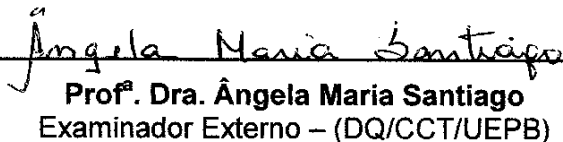
06 de Dezembro de 2013

Banca Examinadora

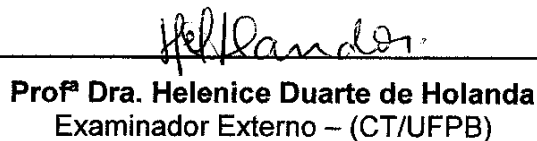


Prof.ª Dra. Líbia de Sousa Conrado Oliveira
Orientadora – (UAEQ/UFCG)

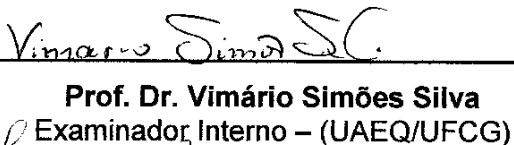
Prof. Dr. Antonio Gilson Barbosa de Lima
Orientador – (UAEM/UFCG)



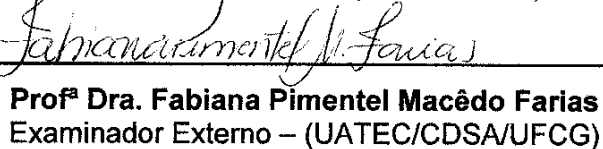
Prof.ª Dra. Ângela Maria Santiago
Examinador Externo – (DQ/CCT/UEPB)



Prof.ª Dra. Helenice Duarte de Holanda
Examinador Externo – (CT/UFPB)



Prof. Dr. Vimário Simões Silva
Examinador Interno – (UAEQ/UFCG)



Prof.ª Dra. Fabiana Pimentel Macêdo Farias
Examinador Externo – (UATEC/CDSA/UFCG)

Campina Grande – PB
2013

DEDICO

Aos meus pais ***Maroly e Antonio Davi***
(*in memorian*) que com simplicidade e
sabedoria me ensinaram a buscar
sempre meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, luz divina sempre presente em minha vida. Por ter me dado saúde, paz, energia e perseverança para que eu pudesse buscar e concretizar meus objetivos.

Ao meu marido Emmanuel Paixão e minha filha Maria Clara, companheiros em cada momento desta jornada, estando sempre ao meu lado com compreensão e paciência, me dando força e apoio em todos os momentos. Amo vocês!

A minha família, em especial, aos meus queridos pais, pela educação que recebi e pela oportunidade que sempre me deram para estudar e crescer profissionalmente. Pessoas chaves de minha formação, exemplos de vida, doação, humildade e fortaleza.

Aos meus orientadores, Dra. Líbia de Sousa Conrado e Dr. Antonio Gilson Barbosa, pela confiança depositada em mim, orientação e por seus valiosos conhecimentos, que foram acima de tudo fundamentais para minha caminhada.

À Ângela Santiago, por sua amizade, atenção, carinho e por ter sido sempre prestativa, dividindo todos os seus valiosos conhecimentos que por muitas vezes foram determinantes para conclusão deste trabalho.

A Débora, pela amizade e grande ajuda na parte experimental.

A todos os amigos, Lahyana, Francisco, Marcos, Flávia, Enivaldo, Daniele, Paloma, Neto, Bruno, Sr.Jardes, Paulinho pelo apoio e contribuição.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para que esse trabalho fosse concluído com sucesso.

Muito obrigada!

RESUMO

BRITO, K. D. Estudo experimental do limão Tahiti (*Citros latifolia* Tanaka): congelamento e caracterização termo-físico-química e sensorial da polpa e aproveitamento do albedo na síntese de pectinase.

O limão Tahiti é bastante apreciado mundialmente. No Brasil, sua produção é destinada, prioritariamente, à comercialização do fruto in natura. A obtenção de polpa congelada é uma alternativa para possibilitar mais uma opção de consumo e agregar valor a produção. O processamento para obtenção da polpa gera uma quantidade de resíduos com alto potencial de conversões biológica e química que normalmente são descartados de forma inadequada no meio ambiente. Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo, realizar o estudo experimental do congelamento da polpa de limão Tahiti, caracterizar termo-físico-quimicamente, microestrutural e sensorial e aproveitar o albedo, para produção de exo-poligalacturonase. A polpa de limão foi extraída, congelada a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e armazenada por 180 dias. Foram avaliados diferentes parâmetros termo-físico-químico, microestrutural e sensorial da polpa congelada. O albedo foi utilizado como matéria-prima para a produção da exo-poligalacturonase por meio da fermentação em estado sólido, usando o micro-organismo *Aspergillus niger* CCT 0916 como agente da fermentação. Os resultados obtidos mostraram-se satisfatórios com relação aos parâmetros de qualidade físico-químicos (teores de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$), acidez em ácido cítrico, açúcares redutores, vitamina C, pH, HMF, furfural), aceitação sensorial, temperatura de início de congelamento, massa específica, calor específico e atividade poligalacturonásica (APG). A comercialização do limão Tahiti na forma de polpa congelada é uma técnica que garante a sua conservação por meses, e o aproveitamento do albedo é bastante promissor na produção de poligalacturonase.

Palavras-chave: Limão Tahiti. Polpa congelada. Pectinase. Fermentação

ABSTRACT

BRITO, K. D. Experimental study of the Tahiti lime (*Citrus latifolia* Tanaka): freezing and thermo-physical-chemical and sensory characterization of the pulp and the use of the albedo in the synthesis of pectinase.

The Tahiti lime is popular worldwide. In Brazil, its production is designed primarily for the marketing of in natura fruit. The obtaining of frozen pulp is an alternative to allow one more consumption option and add production value. The process for obtaining the pulp generates an amount of residues with high potential for biological and chemical conversions that are normally discarded improperly in the environment. In this context, this work aims, conduct an experimental study of the freezing of the Tahiti lime pulp, characterize thermo-physical-chemically, microstructural and sensory, and enjoy the albedo for production of exo-polygalacturonase. The lime pulp was extracted, frozen at $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and stored for 180 days. Were evaluated different thermo-physical-chemical, microstructural and sensory parameters of the frozen pulp. The albedo was used as raw material for the production of exo-polygalacturonase by solid state fermentation using the microorganism *Aspergillus niger* (CCT 0916) as an agent of the fermentation. The obtained results were satisfactory with respect to the physical-chemical parameters of quality (soluble solid contents ($^{\circ}\text{BRIX}$), acidity in citric acid, reducing sugars, vitamin C, pH, HMF, furfural), sensory acceptance, initial freezing temperature, density of the mass, specific heat and polygalacturonásica activity (APG). The marketing Tahiti lime in the form of frozen pulp is a technique that ensures their preservation for months, and the use of albedo is promising in producing polygalacturonase.

Keywords: Tahiti Lime. Frozen pulp. Pectinase. Fermentation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Árvore de <i>Citrus latifolia</i> Tanaka, cv. Tahiti.....	19
Figura 2	Fruto de <i>Citrus latifolia</i> Tanaka, cv. Tahiti.....	20
Figura 3	Especificação e geometria dos cristais de gelo nas diversas faixas de temperatura.....	33
Figura 4	Curvas de congelamento de um produto alimentício e da água pura.....	35
Figura 5	Registro dos dados de temperatura: a) freezer doméstico, b) termopar no centro geométrico da amostra, c) termopar no ambiente do congelador, d) sistema de aquisição de dados.....	50
Figura 6	Microscópio óptico utilizado para observar as imagens das estruturas cristalinas das polpas congeladas.....	51
Figura 7	Aparelho DSC com compensação de potência (a) sensores e fontes de aquecimentos individuais (b).....	53
Figura 8	Etapas de produção da polpa congelada e do resíduo seco do limão Tahiti.....	57
Figura 9	Relação entre a acidez titulável e o pH da polpa de limão durante o armazenamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$	68
Figura 10	Teores médios de sólidos solúveis (% Brix) da polpa de limão durante o armazenamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$	69
Figura 11	Teores médios de açúcares redutores (%) da polpa de limão durante o armazenamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$	70
Figura 12	Teores médios de vitamina C da polpa de limão durante o armazenamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$	71
Figura 13	Polpa de limão congelada e armazenada por 180 dias.....	73
Figura 14	Curva de congelamento da polpa de limão a temperatura de $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Ensaio I).....	74
Figura 15	Curva de congelamento da polpa de limão à temperatura de $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Ensaio II).....	75

Figura 16	Curva de congelamento da polpa de limão à temperatura de $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Ensaio III).....	75
Figura 17	Curvas dos ensaios de congelamento da polpa de limão.....	76
Figura 18	Taxa de resfriamento da polpa de limão Tahiti durante o congelamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$	78
Figura 19	Fotomicrografias da polpa de limão congelada a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (a) aumento de 100x (b) aumento de 200x.....	80
Figura 20	Curvas DSC para os ciclos resfriamento e aquecimento da polpa de limão.....	82
Figura 21	Proporção de aceitação do sabor para cada tempo de armazenamento ...	90
Figura 22	Proporção de aceitação do aroma para cada tempo de armazenamento ..	90
Figura 23	Proporção de aceitação da aparência para cada tempo de armazenamento.....	91
Figura 24	Intenção de compra da polpa de limão	92
Figura 25	Acompanhamento cinético do processo do processo fermentativo da produção da exo-PG utilizando como matéria-prima o albedo seco do limão Tahiti.....	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição nutricional do limão Tahiti.....	21
Tabela 2	Massa e rendimento do limão Tahiti da polpa extraída e do resíduo.....	63
Tabela 3	Massa e rendimento das frações do albedo, flavedo e bagaço presentes no resíduo do limão Tahiti.....	64
Tabela 4	Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos e químicos da polpa in natura de limão.....	65
Tabela 5	Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos e químicos das polpas de limão durante o armazenamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.	67
Tabela 6	Teores de HMF e furfural durante o armazenamento da polpa de limão Tahiti.....	72
Tabela 7	Valores médios da massa específica e desvio padrão da polpa de limão nas temperaturas de 25 e -20°C	81
Tabela 8	Tempo de armazenamento e tamanho de cada amostra	84
Tabela 9	Frequência e porcentagem das opiniões com relação ao sabor da polpa armazenada por um período de 1 a 180 dias.....	85
Tabela 10	Frequência e porcentagem das opiniões com relação ao aroma	86
Tabela 11	Frequência e porcentagem das opiniões com relação à aparência	86
Tabela 12	Proporções de aceitação do sabor de cada item simultaneamente com o tempo de armazenamento	87
Tabela 13	Proporções de aceitação do aroma de cada item simultaneamente com o tempo de armazenamento.....	88
Tabela 14	Proporções de aceitação da aparência de cada item simultaneamente com o tempo de armazenamento.....	89
Tabela 15	Caracterização físico-química do albedo seco do limão Tahiti.....	93

LISTA DE QUADRO

Quadro 1	Ficha de avaliação do teste de aceitação e intenção de compra do suco da polpa congelada de limão Tahiti.....	55
----------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABRECITRUS – Associação Brasileira dos Exportadores de Citros

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC – Association Official Analytical Chemistry

APG – Atividade poligalacturonásica

AR – Açúcar redutor

ATT – Acidez titulável total

A_w – Atividade de água

°Brix – Sólidos solúveis totais

CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo

CLAE – Cromatógrafo líquido de alta eficiência

C_p – Calor específico

DNS – Ácido 3,5 – dinitro- salicílico

DCFI – Diclorofenol indofenol

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Exo – PG – Exo poligalacturonase

HMF - Hidroximetilfurfural

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBRAF - Instituto Brasileiro de Frutas

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

ppm – parte por milhão

SI – Sistema Internacional

Tic – Temperatura de início de congelamento

Tc – Temperatura de congelamento

U – Umidade

ρ – Massa específica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
1.1	OBJETIVOS.....	18
1.1.1	Objetivo geral.....	18
1.1.2	Objetivos específicos.....	18
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1	LIMÃO TAHITI	19
2.2	POLPA DE FRUTA CONGELADA.....	22
2.2.1	Considerações sobre mercado de polpa de frutas congeladas.....	22
2.2.2	Características de qualidade da matéria prima e polpa congelada.....	23
2.2.3	Produção da polpa de fruta congelada.....	26
2.3	PROCESSO DE CONGELAMENTO.....	28
2.3.1	Microestrutura dos cristais de gelo.....	30
2.3.2	Formação dos cristais de gelo em relação à temperatura.....	32
2.3.3	Temperatura de início de congelamento.....	34
2.4	PROPRIEDADES TERMOFÍSICAS.....	36
2.4.1	Massa específica.....	37
2.4.2	Calor específico.....	38
2.5	ANÁLISE SENSORIAL.....	39
2.6	APROVEITAMENTO DO RESÍDUO.....	41
3	METODOLOGIA.....	45
3.1	LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO.....	45
3.2	MATERIA-PRIMA.....	45
3.3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	45
3.3.1	Obtenção da polpa congelada de limão Tahiti	45
3.3.1.1	Rendimento da polpa.....	46
3.3.2	Caracterização físico-química e química da polpa de limão Tahiti.....	46
3.3.2.1	Antes do congelamento e durante o armazenamento.....	46
	Sólidos totais (ST).....	46
	Sólidos solúveis totais (°Brix).....	46

	pH	47
	Acidez titulável (ATT).....	47
	Açúcares redutores (AR).....	47
	Açúcares redutores totais (ART).....	47
	Ácido ascórbico (vitamina C).....	48
3.3.2.2	Antes do congelamento.....	48
	Umidade.....	48
	Cinzas.....	48
	Atividade de água.....	48
3.3.2.3	Durante o armazenamento.....	48
	Hidroximetilfurfural e furfural.....	49
3.3.4	Cinética de congelamento da polpa de limão Tahiti.....	49
3.3.5	Análise das microestruturas dos cristais de gelo.....	50
3.3.6	Propriedades termofísicas.....	51
3.3.6.1	Determinação da massa específica.....	51
	Método do picnômetro.....	51
	Método do deslocamento da água.....	52
3.3.6.2	Determinação do calor específico.....	53
3.3.7	Análise sensorial.....	54
3.3.8	Análise estatística.....	54
3.3.9	Aproveitamento do resíduo (albedo seco).....	56
3.3.9.1	Obtenção do resíduo seco do albedo de limão Tahiti.....	56
3.3.9.2	Caracterização do albedo seco do limão Tahiti	56
3.3.10	Processo fermentativo utilizando o albedo seco do limão Tahiti.....	58
3.3.10.1	Micro-organismo.....	58
3.3.10.2	Preparo do inóculo.....	58
3.3.10.3	Preparo do meio.....	59
3.3.10.4	Obtenção da suspensão de esporos e quantificação.....	60
3.3.10.5	Inoculação e incubação do meio.....	61
3.3.10.6	Extração e determinação da atividade enzimática.....	61
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	63

4.1	CÁLCULO DO RENDIMENTO.....	63
4.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E QUÍMICA DA POLPA DE LIMÃO ANTES DO CONGELAMENTO.....	64
4.3	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E QUÍMICA DA POLPA CONGELADA DURANTE 180 DIAS DE ARMAZENAMENTO A $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$..	67
4.3.1	Determinação da concentração do hidroximetilfurfural e furfural durante o armazenamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$..	72
4.5	CINÉTICA DE CONGELAMENTO DA POLPA DE LIMÃO TAHITI.....	74
4.6	ANÁLISE MICROESTRUTURAL.....	79
4.7	PROPRIEDADES TERMOFÍSICAS.....	81
4.7.1	Massa específica.....	81
4.7.2	Calor específico.....	82
4.8	ANÁLISE SENSORIAL.....	84
4.9	APROVEITAMENTO DO RESÍDUO.....	92
4.9.1	Caracterização físico-química do albedo seco do limão Tahiti.....	92
4.9.2	Acompanhamento cinético da poligalacturonase.....	94
5	CONCLUSÕES.....	97
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	99
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100

1. INTRODUÇÃO

A procura por praticidade no preparo dos alimentos tem crescido substancialmente nos últimos anos, favorecendo o comércio de alimentos congelados que possibilita diversidade aos consumidores devido à conveniência de transporte, armazenamento e utilização (AGOSTINI-COSTA et al., 2003). Deste modo, a indústria de polpa de frutas tem se expandido no mundo todo, especialmente no Brasil, onde a imensa capacidade da produção nacional da principal matéria prima da polpa de frutas, a fruta em si, contribui para o desenvolvimento deste setor.

De acordo com Neves e Jank (2006), a citricultura é um dos setores mais competitivos e de maior potencial de crescimento do agronegócio. O limão Tahiti, que tem sua produção nacional destinada prioritariamente à comercialização do produto in natura, vem crescendo em importância no grupo dos citros. Praticamente, todos os países da América do Sul, Central, México e estado da Flórida (EUA), produzem o limão Tahiti (IBRAF, 2010).

No Brasil, a lima ácida Tahiti se enquadra hoje como um dos frutos cítricos de maior importância comercial, com uma produção anual de aproximadamente 1.126.740 toneladas (EMBRAPA, 2013). A região Sudeste é a principal produtora com 85,41% do total, sendo que, o estado de São Paulo lidera com uma produção de 75,72%. A Bahia tem sua produção em torno de 53 mil toneladas/ano, o que representa 47% da produção nordestina (IBGE, 2010). Na Paraíba, a produção anual registrada é de 2.212 toneladas (IBGE, 2010). Com relação às exportações brasileiras, a análise dos últimos anos revela uma tendência de crescimento em volume, o que também ocorre nas exportações mundiais.

A maior oferta do limão Tahiti ocorre, basicamente, no primeiro semestre do ano, e menor oferta no segundo semestre, sendo a diferença no preço muito grande nas épocas mencionadas, variando de 5 a 10 vezes mais na entressafra. O seu valor de mercado está relacionado à ausência de sementes, ao seu aroma intenso e agradável, ao elevado volume de suco e a sua capacidade de florescer e frutificar ao longo do ano.

Com relação aos canais de distribuição do limão Tahiti, tem-se que 89 % da sua produção é destinada ao mercado interno da fruta in natura, 7 % para o processamento, sob a forma de suco concentrado, especialmente, com a finalidade de participar na composição de “blends” (misturas) para incrementar o sabor de bebidas, 4 % para exportação (NEVES et al., 2007).

Segundo Silva et al. (2008), o mercado interno do limão tem potencial de crescimento, no entanto seu consumo ainda é muito baixo, pois está atrelado ao hábito do consumidor que o utiliza como especiaria. Uma das oportunidades para o crescimento da demanda de limão seria propiciar ao consumidor novos produtos derivados do mesmo. Como exemplo, a obtenção da polpa congelada que é uma alternativa viável, já que, a produção de polpas de frutas congeladas tem se destacado como uma importante alternativa para o aproveitamento de frutas durante a safra, cujo preço não é compensador quando comercializado na forma natural. Além de que, a polpa de limão é mais uma opção de consumo, diante da diversidade de sabores já consolidados no mercado de polpas de frutas e o seu processamento é uma atividade agroindustrial importante que possibilitará mais uma forma de utilização do fruto com características nutricionais e sensoriais desejáveis e uma forma mais prática de comercialização.

O processamento para a obtenção da polpa gera uma quantidade de resíduos que equivalem em média a 45% do peso fresco do fruto (MENDONÇA et al., 2006). O que evidencia a importância do aproveitamento destes resíduos, pois os mesmos apresentam alto potencial de conversões biológica e química, que através de uma tecnologia adequada podem ser convertidos em produtos comerciais de maior valor agregado, como as enzimas dentre elas as pectinases.

Considerando que não há um estudo científico da polpa de limão Tahiti e o seu uso em grande parte como especiaria, faz-se necessário a aplicação de técnica de congelamento como uma alternativa no mercado de polpa de fruta, possibilitando mais uma opção para o consumidor, assim como, o aproveitamento do resíduo gerado pelo processamento, na produção de pectinases, minimizando o impacto causado por estes ao ambiente.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Realizar o estudo experimental do congelamento da polpa de limão Tahiti, caracterizar termo-físico-quimicamente, microestrutural e sensorial e aproveitar o albedo para produção de pectinases.

1.1.2 Objetivos específicos

- Estabelecer o procedimento para obter a polpa de limão Tahiti;
- Determinar o rendimento após extração da polpa;
- Caracterizar físico-quimicamente a polpa de limão em relação aos sólidos totais, sólidos solúveis (°Brix), pH, acidez titulável em ácido cítrico, açúcares totais, açúcares redutores (em glicose), cinzas, umidade, atividade de água e vitamina C antes do congelamento;
- Estudar a cinética de resfriamento, congelamento e pós-congelamento da polpa de limão Tahiti;
- Determinar os parâmetros de qualidade físico-químico e químico (pH, acidez titulável, açúcares redutores, vitamina C, HMF e furfural) da polpa de limão durante 180 dias de armazenamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$;
- Verificar a microestrutura dos cristais de gelo, após congelamento das polpas;
- Determinar as propriedades termofísicas: calor específico e massa específica da polpa de limão.
- Analisar sensorialmente os sucos preparados com as polpas de limão Tahiti armazenadas durante 180 dias.
- Aproveitar o albedo do limão Tahiti como matéria-prima na produção da enzima poligalacturonase utilizando a fermentação em estado sólido e tendo como agente metabolizador o *Aspergillus niger* CCT 0916.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LIMÃO TAHITI

A lima ácida, cv Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), é popularmente conhecida no Brasil como limão Tahiti. O limoeiro tahitiano foi introduzido no Brasil na década de 1960, e só nos anos 70 é que teve grande impulso. É proveniente de uma árvore de porte médio a grande, expansiva, curvada e vigorosa (Figura 1), produzindo a partir do terceiro ano em torno de 8 a 15kg de frutos por planta (BRAZ, 2007).

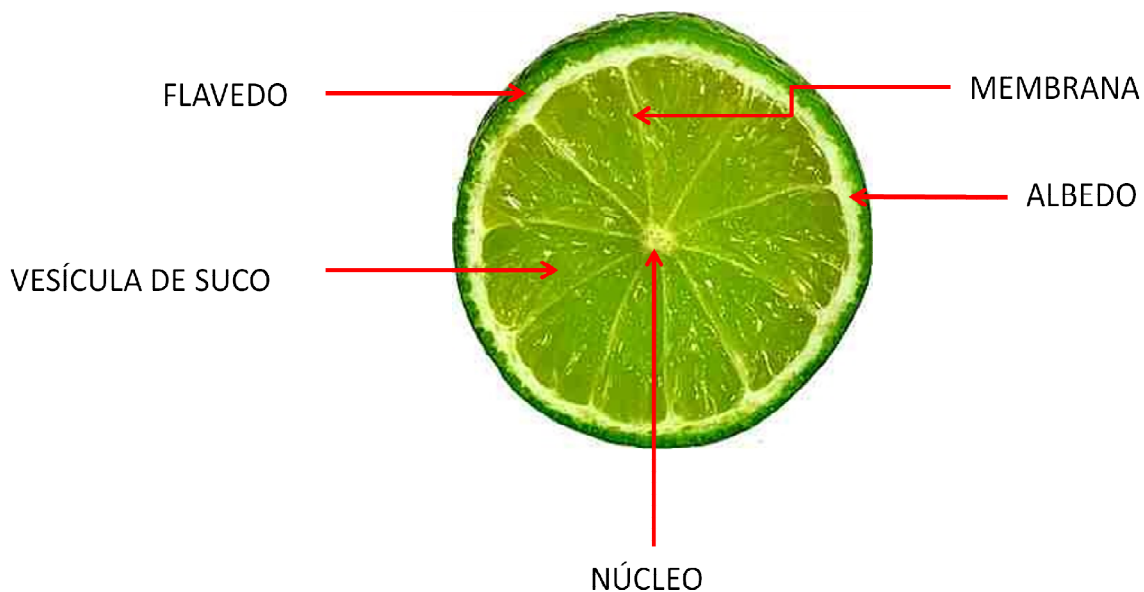
Figura 1 – Árvore de *Citrus latifolia* Tanaka, cv. Tahiti.



Fonte: Epamig (2011)

O limão Tahiti pesa em média 170 gramas, tem formato arredondado e liso, sendo colhido ainda verde para consumo e comercialização. Apresenta polpa com muito suco, formada por 8 a 11 gomos separados por membrana fibrosa constituída basicamente por celulose (Figura 2). Quanto às sementes, elas são ausentes, porque tanto o pólen como as células do óvulo degeneram durante a multiplicação celular na fecundação (TRUCOM, 2005).

Figura 2 - Fruto de *Citrus latifolia* Tanaka, cv. Tahiti.



Fonte: Autora

É uma fruta de polpa espessa e firme, envolta por uma casca composta de duas frações distintas: o “flavedo” ou epicarpo e o “albedo” ou mesocarpo, facilmente separáveis da polpa, que corresponde à fração comestível do fruto. No “flavedo” encontram-se substâncias químicas como os carotenóides, vitaminas e óleo essencial. O “albedo” que corresponde à porção esponjosa, branca e aderente à casca, é rico em hemicelulose, celulose, lignina, glicídeos solúveis, substâncias pécicas e compostos fenólicos (MENDONÇA et al., 2006).

A polpa representa 50% do peso do fruto, com teores médios de sólidos solúveis totais (SST) de 10 °Brix e uma grande quantidade de ácido cítrico, que varia entre 5 e 7%, o que lhes confere um gosto ácido, e no suco, essa acidez corresponde a valores de pH de 2 a 3, em média. Considerando a vitamina C, a polpa do limão Tahiti apresenta teores variando de 20 a 40 mg/mL de suco. Porém, sua entrecasca é rica em vitamina C apresentando 150 mg/100g (TRUCOM, 2005).

Por ser de baixo aporte energético, o limão Tahiti brasileiro é particularmente bem adaptado às exigências alimentares atuais, pelo alto teor de nutrientes úteis e baixo valor calórico (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição nutricional do limão Tahiti.

Nutrientes	Unidades	Valor por 100g de valor nutritivo
Energia	kcal	32
Umidade	-	87,4
Proteínas	g	0,9
Lipídios	g	0,1
Carboidratos	g	11,1
Fibra alimentar	g	1,2
Cinzas	g	0,4
Cálcio	mg	51
Potássio	mg	128
Fósforo	mg	24
Ferro	mg	0,2
Sódio	mg	1
Cobre	mg	0,06
Zinco	mg	0,2
Vitamina B1 (tiamina)	mg	0,3
Vitamina B2 (riboflavina)	mg	0,04
Vitamina B3 (niacina)	mg	0,3
Vitamina C	mg	38,2
Vitamina P (citrina)	UI	6

Fonte: TACO - Tabela brasileira de composição de alimento (2011)

2.2 POLPA DE FRUTA CONGELADA

2.2.1 Considerações sobre mercado de polpas de frutas congeladas

Com a tecnologia disponível, o mercado de polpas de frutas congeladas tem crescido bastante nos últimos anos, visto que tem se tornado um produto que atende a vários segmentos da indústria alimentícia (MORAES, 2006). Além do mais, a sua produção se tornou um meio favorável para melhor aproveitamento da matéria-prima, representando uma oportunidade para os fruticultores obterem melhores ganhos financeiros (SERAFIN, 2009).

As indústrias de polpas de frutas no Brasil visam os mercados fornecedores em todo o âmbito nacional, uma vez que a produção de frutas no Brasil atende as necessidades de abastecimento da matéria-prima, maquinário e demais insumos (NASCENTE, 2003).

A comercialização de polpas de frutas no mercado interno e externo é interessante para a agroindústria brasileira, pois o Brasil cresceu nesta área e conquistou a condição de maior exportador de polpa e sucos de frutas cítricas e tropicais, o que vem promovendo oportunidades de abertura de novos mercados para exportação de frutas e polpa de frutas congeladas do Brasil (BRITO, 2011).

No Nordeste brasileiro, o mercado de polpas de frutas congeladas tem apresentado expressivo crescimento, com grande potencial mercadológico, especialmente pela variedade de frutas e sabores agradáveis, como também pelo fato de que na região tem-se uma grande produção de frutos cuja elevada perecibilidade é responsável por perdas superiores a 25% na época de safra (BUENO et al., 2002; CALDAS et al., 2010). Este segmento tem despertado interesse por parte de órgãos de financiamento, instituições de pesquisa, universidades e órgãos governamentais no sentido de investir na melhoria da qualidade das polpas através da padronização e monitoramento de novos processos, com vistas a aumentar seu tempo de vida útil (NASCENTE, 2003).

Bueno et al. (2002) resalta que há uma tendência no mercado da substituição dos sucos engarrafados pela polpa de fruta congelada, devido a não utilização de aditivos químicos na conservação do produto e menor preço de venda, em função de menor custo de produção.

2.2.2 Características de qualidade da matéria-prima e da polpa congelada

As características de qualidade das frutas resultam da interação de vários fatores, tanto da fase de pré-colheita como da pós-colheita, e que podem ser agrupados em diferentes categorias, tais como: fatores genéticos (cultivares, porta-enxerto), climáticos, culturais, estágio de maturação e tratamento pós-colheita, os quais são imprescindíveis para um adequado processamento (CHITARRA, 1994; FELLOWS, 2000).

A colheita precoce interrompe o desenvolvimento do fruto e prejudica o processo de amadurecimento, provocando perda da qualidade final da polpa de fruta e menor rendimento. Do mesmo modo, a colheita tardia com a fruta muito madura, trará consequências irreversíveis de perdas.

A qualidade dos frutos depende do estado adequado de maturação, e está relacionada ao aumento da taxa respiratória (BLUM e AYUB, 2008). No entanto, o grau de maturação ótimo para colheita da fruta, dependerá da utilização que se fará (consumo direto ou processamento), sendo um parâmetro decisivo para o seu potencial de conservação (CARVALHO, 1994).

Toda fruta possui uma série de atributos característicos que irá definir o sucesso ou insucesso em sua comercialização. De um modo geral, deseja-se que as frutas destinadas ao processamento de polpas apresentem atributos de qualidade em relação à composição, rendimento, cor, sabor, aroma, textura e valor nutritivo os quais constituem características de qualidade à comercialização e utilização da polpa na elaboração de produtos industrializados (GOES et al., 2012; OLIVEIRA et al., 1999).

O conhecimento da composição química dos frutos é de fundamental importância para que se possa avaliar a disponibilidade de nutrientes e o seu consumo. Em se tratando dos frutos cítricos, a composição química sofre variações em função do clima,

dos tratos culturais, do tipo de solo, das cultivares utilizadas e ainda entre as partes de um mesmo fruto (CARVALHO e NOGUEIRA, 1979; MENDONÇA et al., 2006).

Os atributos de qualidade referentes à cor, aroma, sabor e textura devem ser considerados em conjunto, pois são poucos representativos da qualidade como um todo, se considerados isoladamente (BEZERRA, 2003).

A cor é um atributo de qualidade nas frutas destinadas ao processamento, pois sua intensidade na produção de sucos e polpas é fundamental, especialmente para aquelas frutas que podem sofrer degradação dos pigmentos naturais durante o tratamento térmico ou por processos naturais iniciados pela ação mecânica que sofrem nas etapas de preparo (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Considerando o sabor, para os frutos cítricos este atributo está relacionado às quantidades relativas de açúcares (sólidos solúveis totais) e acidez titulável no suco (SST/AT), conhecida como índice de maturidade ou, simplesmente, “ratio”. Apesar da relação sólidos solúveis/acidez apenas descrever o sabor da fruta, este é um indicador do índice de maturação que apresenta boa replicabilidade e é de fácil determinação (BENDER e FLORES CANTILLANO, 2011; SOUSA, 2009).

A textura está relacionada com a estrutura do tecido e é composta por um conjunto de atributos sensoriais de elevada relevância, que influenciam ou determinam a aceitação/rejeição da fruta (ROMOJARO e RIQUELME, 1994).

Segundo Cordenunsi et al. (2003), citados por Malgarim et al. (2008), a mudança na textura é uma consequência natural do processo de senescência.

O valor nutricional é um dos principais fatores que conduzem o interesse crescente no consumo e processamento de frutas, uma vez que as mesmas têm alto valor vitamínico, mineral e a natureza dos glicídios que contêm é de fácil digestão. De acordo com Bezerra (2003), o valor nutritivo muda com o avanço da maturação, tornando-se maior, embora ocorra variação na proporção dos nutrientes.

Em se tratando da polpa de fruta congelada esta apresenta uma grande variação nas características de qualidade (cor, sabor, aroma e textura) que evidencia modificações no aspecto químico e bioquímico do produto, decorrentes de problemas

associados à deficiência nas técnicas de processamento e/ou armazenamento do mesmo (CALDAS et al., 2010).

Considerando às características físicas e químicas, estas deverão corresponder as originais da fruta, observando-se os limites mínimos e máximos estabelecidos, nas normas específicas, para cada polpa de fruta (BRASIL, 2000).

Segundo a ANVISA (2007), a polpa de fruta é o produto natural obtido por esmagamento das partes comestíveis de frutas carnosas, maduras e frescas, por processos tecnológicos e sanitários adequados. É o produto não fermentado, não concentrado, não diluído, com teor mínimo de sólidos totais proveniente da parte comestível do fruto. O teor mínimo de sólidos totais é estabelecido para cada polpa de fruta específica.

Os procedimentos de controle de qualidade como acidez titulável, sólidos solúveis, açúcares redutores, vitamina C e pH são importantes para a padronização do produto e análise de alterações ocorridas durante processamento e armazenamento.

Através da análise da acidez titulável e do pH pode-se ter uma indicação do estado de conservação de um produto alimentício. Pois, no processo de decomposição do alimento, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, ocorre alteração na concentração dos íons de hidrogênio, e por consequência na sua acidez (DANTAS et al., 2010; MACEDO, 2001; OLIVEIRA et al., 1999).

No caso dos sucos cítricos, a degradação do ácido ascórbico, dos ácidos orgânicos (principalmente o ácido cítrico) e dos açúcares presentes no suco poderá ocorrer com formação do hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, favorecendo o escurecimento não enzimático o qual causa o aparecimento de sabor estranho (LEE e NAGY, 1988; PEDRÃO et al., 1999).

Em termos dos sólidos solúveis (°Brix), estes indicam a quantidade de substâncias que se encontram dissolvidos no suco, sendo constituído por compostos solúveis em água, que representam substâncias, tais como açúcares, ácidos, pectina, vitaminas hidrossolúveis, como exemplo, a vitamina C (CHAVES et al., 2004; OLIVEIRA et al., 1999). No entanto, o teor de sólidos solúveis pode sofrer variação, devido a fatores climáticos, variedade, solo, como também, durante o processamento, pela

adição de água a polpa extraída, levando à condição de abaixamento do teor de sólidos solúveis no produto final (DANTAS et al., 2010; SANTOS et al., 2004).

O teor de açúcar no fruto é um parâmetro importante na produção de frutos destinados à indústria de sucos, pois permite melhor rendimento no processamento (DANTAS et al., 2010; FERREIRA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 1999).

A vitamina C é usada como índice de qualidade nutricional de produtos derivados de frutas e vegetais, porque quando comparado a outros nutrientes, esta vitamina é mais sensível à degradação durante o processamento e subsequente estocagem (DANIELI et al., 2009).

Os principais fatores capazes de degradar o ácido ascórbico estão relacionados ao meio alcalino, oxigênio, calor, ação da luz, metais (Fe, Cu, Zn) e a enzima oxidase do ácido ascórbico (CASTRO, 2005; GABAS e MENEGALLI, 2003; OLIVEIRA et al., 1999).

2.2.3 Produção da polpa de fruta congelada

Para a obtenção da polpa de fruta congelada, uma sequência de etapas deve ser efetuada sem nenhuma alteração da ordem, a fim de se obter produtos dentro dos padrões de segurança do alimento estabelecidos pelo Ministério da Saúde e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (KEPLER e FAIR, 2008).

De modo geral, a produção de polpa congelada segue as seguintes etapas de produção: recepção/pesagem, lavagem, seleção, descascamento, desintegração/corte, despulpamento, envase, congelamento e armazenamento (SEBRAE, 2007).

Na etapa de recepção e pesagem as frutas são pesadas e passam por uma pré-seleção, onde são observados os seguintes atributos: maturação fisiológica, pH, ° Brix e acidez titulável.

A etapa de lavagem é muito importante no processamento da fruta, sendo realizada com o objetivo de reduzir o número de micro-organismos da superfície e, ainda permitir melhor visualização destas durante a etapa de seleção.

A seleção evita o uso de frutas excessivamente verdes, estragadas e aquelas em estágio de maturação avançado, visto que, poderiam causar prejuízos às características naturais do produto final.

Na operação de descasque, algumas frutas necessitam ter sua casca retirada antes da etapa de desintegração. O descascamento pode ser feito por vários métodos conforme a fruta a ser processada, podendo ser manual, mecanizado ou através de processos químicos, como a lixiviação.

No despulpamento separa-se a polpa do material fibroso, além de se conseguir a redução do tamanho das partículas. Alguns frutos requerem a desintegração ou corte para facilitar a extração da polpa.

O envase pode ser feito diretamente na embalagem de comercialização ou em maiores volumes para estoque. Ele pode ser manual, semiautomático ou automático, de acordo com o equipamento disponível. Geralmente, as polpas são comercializadas em embalagens flexíveis (sacos plásticos de polietileno) ou tetra pak, pela facilidade no manuseio.

O tipo de embalagem utilizada no acondicionamento tem influência na vida de prateleira, visto que a vitamina C apresenta baixa estabilidade e está sujeita à degradação pela ação do oxigênio, luz, pH, açúcares e aminoácidos livres (DANTAS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 1999).

O efeito do processo de congelamento quando a fruta é congelada na forma de polpa é verificado através de mudanças em suas composições, causadas por reações químicas durante o armazenamento posterior (FERNANDES et al., 2010)

Considerando o armazenamento, é importante que a temperatura de conservação seja mantida de forma uniforme, pois flutuações na temperatura poderão provocar recristalização, com formação de grandes cristais de gelo, que após descongelamento, acarretará perda de suas características originais, organolépticas nutricionais, bem como, a segurança para o consumidor quando do seu consumo (COLLA e PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003).

2.3 PROCESSO DE CONGELAMENTO

O processo de congelamento é uma prática muito utilizada para a conservação de um produto, pois promove transformações mínimas no seu valor nutritivo, sensorial, além de, minimizar as atividades microbiológicas e enzimáticas para uma extensão de sua vida de prateleira. Segundo Belchior (2012) e Ciabotti et al. (2000), nos alimentos congelados, a qualidade final está relacionada com as condições empregadas durante o processo de congelamento e com as condições de armazenamento.

O congelamento tem sido o método de conservação mais empregado pela pequena e média indústria de polpas, pois promove a conservação do produto, em condições de oferecer uma qualidade desejável para consumo (ARAÚJO et al., 2000). Porém, o mesmo deve ser feito o mais rápido possível, para manter as características originais, mais próximas dos frutos in natura (MORAES, 2006).

De acordo com Lidon e Silvestre (2008), durante o processo de congelamento se faz necessário utilizar temperaturas entre -18 e -22°C ou inferiores, como também levar em consideração se o congelamento é realizado de forma lenta ou rápida, assim como a velocidade da circulação do ar ou do refrigerante, tamanho e forma da embalagem e o tipo de alimento. Pois, o conhecimento dos fatores que interferem na mudança de estado da polpa é substancial para o monitoramento e controle do cristal de gelo e da qualidade do produto congelado (FERNANDES et al., 2010; GEORGE, 1993).

Para Moraes (2006), a temperatura recomendada para o congelamento da polpa de fruta é na faixa de $-23 \pm 5^{\circ}\text{C}$, no entanto, o tempo necessário para abaixar a temperatura do produto para -5°C não deve ultrapassar 8 horas. Essa temperatura deverá atingir cerca de -18°C em um tempo máximo de 24 horas e deverá ser mantida durante todo o tempo de armazenamento e transporte até o momento do consumo.

Tipos de congelamento têm sido estudados a fim de minimizar as alterações químicas e físicas que deles decorrem. O principal fator de estudo é como a velocidade de congelamento influencia nas características do produto final, pois a localização, o tamanho e a quantidade dos cristais de gelo formados, estão relacionados diretamente com a velocidade de congelamento (COLLA e PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003).

No congelamento lento, a velocidade de congelamento vai decrescendo gradativamente (taxa de 1°C/min.), havendo a formação de grandes cristais de gelo, exclusivamente no meio extracelular. Esses cristais ocasionam a ruptura das células, injúria celular por força do aumento da pressão osmótica e precipitação irreversível dos constituintes coloidais da célula, favorecendo forte exsudação no descongelamento, com perda de nutrientes, principalmente no meio intracelular (BELCHOIR, 2012; COLLA e PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003; FENNEMA et al., 1973; GAVA, 1984).

Em altas taxas de congelamento (congelamento rápido), ocorre a formação de pequenos cristais de gelo nos espaços intercelulares e intracelulares, em grande quantidade, com mínimo deslocamento de água, sendo a aparência do produto congelado, após o descongelamento, similar ao produto não congelado (COLLA e PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003; MARTIN et al., 1982; SOARES et al., 2012).

O congelamento pode ser realizado por diversas formas e com diferentes métodos, entre eles, o congelamento pelo resfriamento com o ar estático ou em circulação, pelo contato indireto com placas super-resfriadas e por imersão em líquidos refrigerantes.

O congelamento com o ar estático, geralmente é realizado em um freezer do tipo doméstico que atinge a temperatura de $-18 \pm 2^{\circ}\text{C}$. No entanto, este apresenta limitação quanto ao tempo requerido para congelar um determinado lote de produto, pois neste tipo de equipamento, a retirada de calor da massa é feita através do contato direto com as paredes do equipamento e por condução, no interior da polpa. Desse modo, o processo de congelamento se torna bastante lento (MORAES, 2006). No congelamento com circulação, o ar resfriado é insuflado em alta velocidade por ventiladores, o que promove o congelamento em pouco tempo. Esse método pode ser aplicado em túneis ou câmaras de congelamento, com as polpas dispostas em bandejas.

No congelamento indireto o produto é colocado dentro de uma embalagem, entre placas metálicas que contém gás refrigerante circulando no seu interior. Este método tem sido aplicado de forma a reduzir o tempo de congelamento de polpas de frutas embaladas em sacos plásticos de polietileno, a fim de possibilitar a manutenção dos atributos de qualidade do produto final (THOMPSON, 2004).

No congelamento por imersão, o produto embalado é mergulhado em líquidos criogênicos como soluções de cloreto de sódio, açúcar, glicerina ou nitrogênio líquido (SILVA, 2000).

O estudo da cinética de congelamento da polpa de acerola por diferentes métodos e temperaturas foi realizado por Araújo et al. (2000), os quais utilizaram um freezer horizontal para a temperatura de congelamento de $-22,6^{\circ}\text{C}$, um criostato para a temperatura de -100°C e imersão em nitrogênio líquido para a temperatura de -196°C . Os resultados revelaram que as curvas de congelamento obtidas a -22 e 100°C distinguiram claramente os três estágios de conversão da água em gelo. Já a curva de congelamento a temperatura de -196°C não distinguiu com clareza os três períodos de conversão, devido a maior velocidade de congelamento e um maior gradiente térmico a que está exposto o produto.

Theansuwan e Triratanasirichai (2008) utilizaram um congelador com jato de ar para investigar o efeito da velocidade do ar e espessura da camada de suco no tempo de congelamento do suco de limão. As curvas de tempo de congelamento mostraram que quando há diminuição da velocidade do ar e aumento da espessura da camada de suco, o tempo de congelamento aumenta. Além disso, o tempo de congelamento é ligeiramente reduzido quando a velocidade do ar é aumentada para qualquer espessura da camada de suco, demonstrando com isso, a não linearidade do processo.

De acordo com Resende e Silveira Jr. (2002b) e Barbin et al. (2009), variação na velocidade do ar significará um maior ou menor tempo de congelamento, já que os perfis de velocidade são influenciados por alterações na quantidade de produto e na distribuição do mesmo no interior do equipamento, podendo levar a erros comuns na determinação de tempos de congelamento.

2.3.1 Microestrutura dos cristais de gelo

A estrutura do alimento é de grande importância em todos os aspectos de funcionalidade, pois a organização microscópica da água e outros componentes do alimento governam as informações macroscópicas que estão sendo observadas através

de instrumentação, isto é, podem ser criadas áreas muito heterogêneas no interior do alimento fazendo com que ocorram grandes modificações na estrutura e qualidade do produto final (PARK e ANTONIO, 2006).

De acordo com Aguilera e Stanley (1990), a microestrutura de alimentos é definida pela organização dos componentes e suas interações, já que em virtude do processamento aplicado, a microestrutura é destruída e posteriormente reconstituída, resultando na sua reestruturação e reorganização.

Segundo Carvalho (2007), nem sempre é possível manter uma integridade celular e a textura do produto congelado, pois a água congelada tem um comportamento peculiar, expandindo-se ao cristalizar e, ao fundir, tem a tendência de recrystalizar, de aglutinar, formando longos e protudentes cristais de gelo.

A extensão dos danos causados pelo crescimento de cristais de gelo pode ser avaliada através de medidas físicas que relacionam a qualidade do produto com as características de composição, firmeza e porosidade do produto descongelado (RESENDE e CAL-VIDAL, 2002).

Os métodos para o processamento de alimentos podem ser baseados no conceito de que mudanças na microestrutura afetam as propriedades do produto. Desse modo, técnicas de análise de microestrutura são necessárias para entender as relações estrutura e propriedades (AGUILERA, 2005).

Os métodos utilizados para análise estrutural dos alimentos em forma de imagens são: a microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura.

A microscopia óptica (MO) associa versatilidade à facilidade de uso e preparo da amostra, sendo uma ferramenta indispensável para a análise estrutural dos cristais de gelo.

A aplicação mais comum da microscopia óptica é a iluminação de campo brilhante, em que a luz é transmitida de baixo através de um pequeno pedaço ou secção de material. A imagem é formada acima da amostra num tubo e visto por uma ocular com o tamanho ampliado de aproximadamente 10 a 100 vezes. As amostras são examinadas a pressão atmosférica normal e não precisam ser desidratadas. Além disso, a preparação de amostras é relativamente fácil (JAMES, 2009). Entretanto, a

microscopia eletrônica de varredura (MEV) é usada para examinar superfícies onde a amostra pode estar seca (MEV convencional) ou congelada abaixo de -80°C (cryo-MEV).

O microscópio eletrônico de varredura utiliza um feixe de elétrons no lugar de fótons utilizados no microscópio óptico convencional, o que permite solucionar o problema de resolução relacionado com a fonte de luz branca, além de alcançar uma profundidade de campo, aproximadamente 500 vezes maior que a microscopia ótica.

A MEV destina-se basicamente ao exame de superfície das amostras, sendo que as superfícies internas das amostras também podem ser visualizadas desde que a amostra seja fraturada e exposta (JAMES, 2009).

2.3.2 Formação dos cristais de gelo em relação à temperatura

Os alimentos congelam-se dentro de uma grande faixa de temperaturas, onde a velocidade de congelamento dependerá da quantidade de água livre presente na célula e da quantidade de sais dissolvidos (BELCHIOR, 2012; ROÇA, 1999).

No início do congelamento, parte da água livre do alimento cristaliza-se, e com o contínuo decréscimo da temperatura, ocorrerá o aumento da formação dos cristais e, conseqüentemente, concentração dos solutos na solução restante e diminuição do seu ponto de congelamento (BECKER e FRICKE, 1999; BELCHIOR, 2012). A velocidade de crescimento do cristal e o processo de cristalização dependem também das concentrações dos componentes envolvidos (ALVES et al., 2008).

A formação de cristais de gelo é uma das principais causas de modificações indesejáveis durante o processo de congelamento (BARRUFALDI e OLIVEIRA, 1998; HELDMAN, 1983; KIRCHHOF et al., 2008).

Durante o processo de cristalização, distinguem-se duas etapas: a nucleação e o crescimento dos cristais. A etapa de nucleação corresponde à orientação e associação das moléculas de água para formar o núcleo de cristalização. Isto é, inicialmente o núcleo se forma e depois cresce, sendo que a força motriz desse processo é a supersaturação (GEANKOPLIS, 1998). Na etapa de crescimento dos cristais, verifica-se

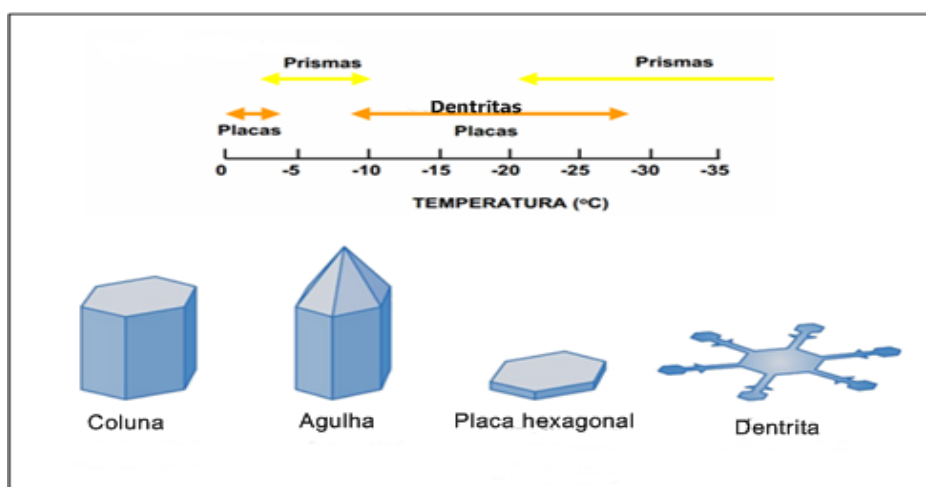
o aumento em tamanho do núcleo e a formação do cristal (ALVES et al., 2008). Essas duas etapas ocorrem de forma simultânea durante o congelamento, contudo, é possível controlar a velocidade relativa de cada uma delas e ajustar as características do produto final (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Segundo Barrufaldi e Oliveira (1998), quando a transferência de calor é rápida, a velocidade de nucleação aumenta consideravelmente, provocando a formação de muitos núcleos, que dão origem a cristais pequenos. Nas amostras congeladas lentamente, ocorre o contrário, formam-se poucos núcleos que resultam em cristais relativamente grandes.

As frutas e hortaliças possuem estruturas com paredes e membranas celulares que são muito vulneráveis a formação de cristais de gelo (KIRCHHOF et al., 2008; NEVES FILHO, 1997; ORDÓÑEZ et al., 2005). E, quando estas são congeladas à temperatura em torno de -20°C perdem a forma acúlea (pontiaguda) dos cristais de gelo formados no seu interior (GRUDA e POSTOLSKI 1996; MATA et al., 2003).

De acordo com a faixa de temperatura são especificadas as seguintes geometrias para os cristais de gelo (Figura-3).

Figura 3 – Especificação e geometria dos cristais de gelo nas diversas faixas de temperatura.



Fonte: Departamento de Ciências Atmosféricas (2006)

2.3.3 Temperatura de início de congelamento

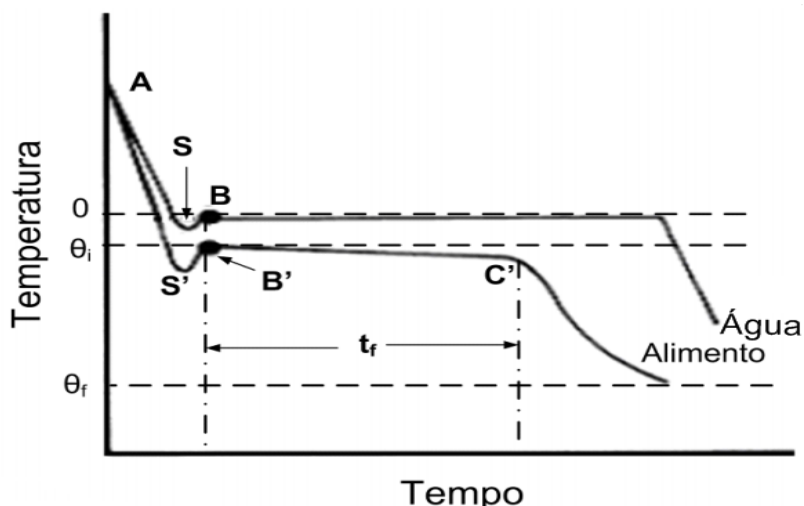
Segundo Silva (1997), o conhecimento da temperatura de início de congelamento se faz necessário para predição das propriedades termofísicas e do tempo de congelamento de alimentos.

Os métodos mais usados para a determinação da temperatura de início de congelamento são baseados em dados experimentais de tempo versus temperatura, entalpia versus temperatura ou de osmometria crioscópica. Dentre esses métodos, o mais comumente usado devido à praticidade é o registro gráfico dos dados experimentais de temperatura em função do tempo durante o congelamento (BARBIN et al., 2010; FENNEMA, 1973).

Durante o processo de congelamento, diferentes regiões do produto passarão através de vários estágios a diferentes tempos. Considerando-se uma região ou um ponto do produto, três fases de alterações ou temperaturas poderão ser definidas: fase de resfriamento, cristalização da água do produto e o congelamento. Na primeira fase a temperatura diminui rapidamente até -1°C ; a segunda fase da cristalização, que deve ser curta, ocorre o congelamento da maior parte da água de constituição do alimento entre -1 e -5°C e na terceira fase, a temperatura deve descer até aos valores em que se pretende efetuar o armazenamento do produto congelado (LIDON e SILVESTRE, 2008; PEREIRA, 2011).

Barbin et al. (2010) relataram que o ponto inicial de congelamento constitui importante propriedade termofísica nos processos de congelamento, não apenas para determinação das melhores condições de estocagem, mas também para a avaliação das alterações provocadas pelo processo no produto. Os mesmos autores descreveram o gráfico (Figura 4) da relação tempo-temperatura de um produto alimentício (AS'B'C') e da água pura (ASB) com o decorrer do tempo de exposição a um sistema de congelamento.

Figura 4 – Curvas de congelamento de um produto alimentício e da água pura.



Fonte: Zaritzki (2000)

Os pontos AS e AS' mostram a etapa de resfriamento, através da redução da temperatura inicial do produto mediante retirada do calor sensível até o sub-resfriamento abaixo do ponto de solidificação do alimento. Esse ponto, diferentemente está sempre abaixo de 0° C devido à presença de sólidos dissolvidos no produto e antes do início da formação dos cristais de gelo. A água presente no alimento no ponto S ainda se encontra no estado líquido, apesar de estar abaixo do seu ponto de congelamento.

Os pontos S e S' representam o início da nucleação, quando os cristais de gelo começam a liberar o calor latente de solidificação mais rapidamente do que a perda de calor para o meio. Isto causa o aumento da temperatura até B ou B', que representa o ponto inicial de congelamento. Os alimentos apresentam temperatura menor que a água pura nesse ponto, devido à presença de sólidos solúveis.

O trecho a partir de B representa a etapa em que ocorre o aumento dos cristais de gelo e a remoção do calor latente, período no qual a temperatura sofre pequena variação e a maior parte da água disponível transforma-se em gelo. Após o congelamento da maior parte da água disponível, a temperatura continua a diminuir com a retirada do calor sensível abaixo do ponto de congelamento (após C') até que a

temperatura do alimento se aproxime do valor da temperatura do meio de resfriamento, considerada como a temperatura de equilíbrio.

2.4 PROPRIEDADES TERMOFÍSICAS

O conhecimento das propriedades termofísicas de alimentos é essencial para a simulação da variação de temperatura no interior dos alimentos durante o congelamento, como também, para estimar o tempo de congelamento e a carga térmica do produto (BARBIN et al., 2010; RESENDE e SILVEIRA Jr., 2002).

As propriedades térmicas dos alimentos dependem fortemente do estado em que se encontra a água contida no alimento. Como a maioria dos alimentos contém grandes quantidades de água, a mudança de fase da água para o gelo tem uma influência significativa sobre estas propriedades (LAMB, 1976).

A maioria dos produtos alimentares começa a congelar entre -1°C e -3°C . Sendo que a principal mudança nas propriedades termofísicas ocorre abaixo da temperatura inicial de congelamento na faixa entre -4 e -10°C e o processo de mudança de fase poderá se estender até temperaturas abaixo de -40° (RENAUD et al., 1992; RESENDE e SILVEIRA Jr., 2002; SINGH, 1982).

Porém, nas determinações experimentais das propriedades térmicas de alimentos, a maior dificuldade é atribuída à grande dependência destas propriedades e suas grandes variações em relação a baixas temperaturas características dos processos de congelamento (RESENDE e SILVEIRA Jr., 2002).

Diante da necessidade de se conhecer as propriedades térmicas com precisão, Incropera, (2003); Moura et al. (2003), ressaltam a importância do estudo da influência da composição e da temperatura nestas propriedades.

Souza (2008) relata que diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos considerando a influência da composição química e a relação tempo-temperatura no estudo das propriedades termofísicas dos alimentos. Sendo essas informações imprescindíveis em sistemas industriais onde se aplicam processos de aquecimento, resfriamento e estocagem sob temperatura controlada (MUNIZ et al., 2006).

Propriedades como massa específica, calor específico, condutividade e difusividade térmica são relevantes em estudos de transferência de calor e massa nos processos de aquecimento e resfriamento de alimentos.

2.4.1 Massa específica

A massa específica ou densidade (ρ) de uma substância é definida pela relação entre a massa da substância e o volume ocupado por esta massa. Esta é expressa em kg.m^{-3} no sistema internacional de unidade.

Dados sobre a massa específica são necessários para a predição dos tempos e temperaturas de congelamento e descongelamento de alimentos, visto que, esta propriedade é uma das mais afetadas pelo congelamento, já que a mudança de fase da água contida no alimento altera grandemente seu volume (SOUZA et al., 2007).

Nos alimentos a massa específica é dependente da temperatura e da composição química, sendo necessário quantificar suas variações durante o processo.

Equações polinomiais obtidas em função da concentração e da temperatura para a determinação da massa específica foram propostas por Alvarado e Romero (1989), para polpas e sucos de frutas em geral, por Ramos e Ibarz (1998) para suco de pêssago clarificado e Zuritz et al. (2005) para suco de uva clarificado.

Em termos de medidas experimentais, os métodos baseados no deslocamento de líquidos, como método do picnômetro e similares que geralmente utilizam água, são amplamente empregados para a determinação da massa específica de sucos e polpas (FLINT e FLINT, 2002).

Estudo da massa específica pelo método do picnômetro para sucos e polpas de frutas acima da temperatura inicial de congelamento foi verificado por Telis-Romero et al. (1998) para suco de laranja; Cepeda e Villarán (1999) para suco de maçã; Azoubel et al. (2005); Bonomo et al. (2009) para suco de caju; Zuritz et al. (2005) para suco de uva; Pereira et al. (2002) para polpa de açaí; Lima et al. (2003) para polpa de umbu; Dantas Jr. et al. (2007) para polpa de manga espada e Bon et al. (2010) para polpa de manga Tommy.

Na literatura há carência de publicações sobre massa específica de polpas de frutas abaixo da temperatura inicial de congelamento. Em geral, foram apresentados valores experimentais para morangos congelados e concentrado congelado de suco de laranja por Singh (1982) e para polpa de cajá com diferentes concentrações de sólidos solúveis sob baixas temperaturas por Mata et al. (2005).

2.4.2 Calor específico

O calor específico (c_p) é definido como a quantidade de energia necessária para alterar em uma unidade a temperatura de uma massa unitária de um material qualquer (SILVA, 2008). A unidade no SI é $J\ kg^{-1}.K^{-1}$, porém uma unidade usual bastante utilizada para calores específicos é $cal.g^{-1}.^{\circ}C^{-1}$.

Nos alimentos o calor específico é afetado significativamente pela quantidade de água e pelo estado físico da mesma. Considerando os alimentos congelados com alto teor de água, por exemplo, estes podem ter valores para o calor específico aproximadamente iguais a metade dos correspondentes em seu estado fresco (LEWIS, 1993).

No produto congelado, o calor específico é na realidade um calor aparente, pois a remoção do calor latente ocorre ao longo de uma faixa de temperatura, que inclui uma porção de calor latente na entalpia (SILVA, 1997).

O calor específico é usualmente determinado pelos métodos de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e pela técnica do calorímetro de mistura.

Na técnica do calorímetro de mistura é utilizado um recipiente isolado de capacidade calorífica conhecida, preenchido com um líquido inerte. Através de um balanço global de massa e energia em um sistema isolado termicamente, obtém-se o cálculo do calor específico.

De acordo com Ramaswamy e Tung (1981), os métodos calorimétricos são mais úteis para o caso em que a mudança de fase ocorre à temperatura constante. Durante o congelamento de alimentos, a mudança de fase ocorre num intervalo de temperaturas o que resulta numa aplicação limitada dos métodos calorimétricos.

O método de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é uma das técnicas que mais se desenvolveu nos últimos anos, sendo largamente utilizada em análise térmica, com aplicações em várias áreas (MA et al., 1990; MARTÍNEZ LEE, 2001; SKOOG e LEARY, 1992).

É uma técnica onde a diferença de energia fornecida a uma substância e o material de referência é determinada em função da temperatura, enquanto ambas são submetidas a um programa controlado de temperatura (MA et al., 1990), resultando em uma ferramenta eficiente e poderosa para efetuar determinações rápidas de calor específico e variação de entalpia numa faixa de temperatura de -173 a 1527 °C.

As vantagens do DSC é que a medição é rápida e uma pequena amostra pode produzir resultados precisos para produtos homogêneos (LOZANO, 2006). A escolha da quantidade da amostra depende da natureza da análise. Normalmente utiliza-se de 1 a 10 mg de amostra, limitando-se ao tamanho da cápsula utilizada e de acordo com o tipo da amostra a ser analisada (DODD e TONGE, 1987).

2.5 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial é uma ciência interdisciplinar em que avaliadores são convidados e se utilizam da complexa interação dos órgãos dos sentidos (visão, olfato, paladar, tato e audição) para medir as características sensoriais e a aceitabilidade dos produtos alimentícios e muitos outros materiais (LANZILLOTT e LANZILLOTT, 1999; WATTS et al., 1992).

A avaliação sensorial dos alimentos é uma característica primária do homem, que desde a infância, de forma mais ou menos consciente, aceita ou rejeita os alimentos, de acordo com a sensação que experimenta ao observá-los e/ou ingerí-los (CAMPOS e BENEDET, 1994; MONTEIRO, 2009).

Segundo Monteiro (2009), a qualidade sensorial de um alimento não é uma característica própria deste, mas sim, o resultado da interação entre o alimento e o homem, onde estão envolvidas características como aparência, sabor, textura, forma, método de preparo, custo e sazonalidade; como também estão presentes as

características do indivíduo associadas à idade, sexo, educação, renda, habilidades na cozinha, entre outras.

A análise sensorial é uma técnica de medição tão importante quanto os métodos físicos, químicos e microbiológicos, pois desempenha papel importante na determinação da qualidade em todos os aspectos da ciência e tecnologia de alimentos (QUEIROZ e TREPTOW, 2006).

As aplicações da análise sensorial na indústria de alimentos e nas instituições de pesquisa estão relacionadas ao desenvolvimento e melhoramento de produtos, controle de qualidade, estudos sobre armazenamento e desenvolvimento de processos (LANZILLOTT e LANZILLOTT, 1999; OLIVEIRA, 2010; STONE e SIDEL, 2004).

Os resultados da qualidade de uma investigação sensorial dependem de provadores (treinados ou consumidores), das condições de realização das provas e do pressuposto de realização do teste (DUTCOSKY, 2011).

Segundo Oliveira (2010), os métodos a serem escolhidos para análise sensorial do produto em desenvolvimento são divididos em: analíticos (descritivos e discriminativos) e afetivos (teste de aceitação e preferência). A análise descritiva caracteriza e descreve as propriedades sensoriais de um produto, empregando uma linguagem técnica. Os métodos discriminativos são, em geral, de fácil interpretação, requerem pouco tempo, são relativamente baratos e estabelecem a diferença qualitativa e/ou quantitativa entre as amostras. Já os métodos afetivos determinam qual o produto preferido e mais aceito por determinado público-alvo, em função de suas características sensoriais.

No processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos, a aceitação por parte do consumidor é fator determinante, para torná-los mais competitivos, otimizar processos, formulações e custos (MONTEIRO, 2009).

Entre os métodos mais empregados para medida da aceitação de produtos estão a escala hedônica e a escala de atitude. Na escala hedônica o consumidor expressa sua aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida que varia gradativamente, com base nos atributos “gosta” e “desgosta” (CARNEIRO et al., 2005;

IZIDORO et al., 2006). A escala de atitude expressa à intenção de compra pelo consumidor.

Os resultados da avaliação em escala hedônica são tabulados em forma de escores numéricos, sendo estes analisados estatisticamente para cada característica sensorial avaliada (CARNEIRO, 2001; MATOS, 2009).

2.6 APROVEITAMENTO DO RESÍDUO

As indústrias processadoras de sucos citros geram grandes quantidades de resíduos, que equivale em média a 45% do peso da fruta, que, em muitos casos, são considerados custos operacionais para as empresas ou fonte de contaminação ambiental (ABECITRUS, 2008; LOUSADA et al., 2005).

Este material apresenta-se rico em alguns componentes como pectina, ácido ascórbico, óleos essenciais e fibras, tornando-o matéria-prima para a indústria alimentícia, farmacêutica e de rações. Além disso, atualmente vem sendo aproveitado para fins mais nobres, como a produção de pectinases fúngicas, metano e para adsorção de corantes residuais (DAKHMOUCHE et al., 2006; MARTINS et al., 2002; TAVARES et al., 1998).

Mendonça et al. (2006) ressaltam que o processamento do limão Tahiti para obtenção do suco produz uma quantidade expressiva de resíduos que equivalem, em média, a 49,9% do peso do fruto. Deste volume de material descartado, o albedo representa a segunda maior porção, em peso fresco. O suco corresponde aos demais 50,1%. Este resultado demonstra a grande perda de material que ocorre durante o processamento industrial do limão Tahiti.

Uma aplicação potencial para o albedo do limão Tahiti que é rico em substâncias pécicas, seria utilizá-lo na fabricação de geleias, doces e farinhas ricas em fibras dietéticas, bem como, servir de fonte de carbono para produção de enzimas, com destaque para as enzimas pectinolíticas ou pectinases, as quais estão entre as enzimas que possuem maior significância comercial.

As pectinases representam um grupo heterogêneo de enzimas que hidrolisam as substâncias pécticas presentes nas células vegetais e, sua principal aplicação está na indústria de processamento de sucos onde são usadas nas etapas de extração, clarificação e concentração (MARTIN et al., 2007). Outras aplicações incluem a indústria de papel, indústria têxtil, indústria de fermentados e extração de óleos vegetais (GALIOTOU-PANAYOTOU e KAPANTAI, 1993; PANAROTTO et al., 2003; UENOJO e PASTORE, 2007).

Com base em suas aplicações, as pectinases podem ser classificadas em pectinases ácidas e alcalinas. As pectinases ácidas tem sua origem de fontes fúngicas, enquanto as alcalinas vêm, em sua maioria, de fontes bacterianas (KASHYAP et al., 2001; SOUSA, 2010).

A utilização de enzimas de origem fúngica tem aumentado progressivamente, apresentando grande destaque no setor industrial, pois cerca de 90% das enzimas produzidas podem ser secretadas no meio de cultura (BLANDINO et al., 2001; SOUSA, 2010).

Segundo Ueda et al. (1982), estudos de produção de pectinases são mais abundantes para fungos filamentosos, uma vez que as enzimas comerciais são provenientes destes micro-organismos e o pH ideal para suas atividades aproxima-se do valor de pH de muitos sucos de frutas, na faixa de 3,0 a 5,5.

Cepas do fungo filamentoso *Aspergillus niger* são as mais utilizadas na produção comercial de pectinases porque suas características toxicológicas são aprovadas em termos legislativos (MALVESSI e SILVEIRA, 2004; MENEZES et al., 2006). Entretanto, as formas mutantes desta espécie também são bastante utilizadas, pois o rendimento de um processo enzimático pode ser melhorado através da seleção de mutantes que sejam mais resistentes à repressão catabólica e que sintetizem maiores quantidades de enzima sem a presença de um indutor (MENEZES et al., 2006).

Em termos do substrato preferencial, mecanismo de ação e sítios de clivagem, as pectinases são classificadas em dois grupos principais: despolimerizantes e desmetoxilantes. As enzimas desmetoxilantes agem removendo grupos metil da cadeia principal, já as despolimerizantes (que incluem as enzimas hidrolíticas e as liases)

rompem as ligações α , 1-4 entre monômeros de ácido galacturônico, tanto por hidrólise quanto por trans-eliminação (CORDEIRO e MARTIN, 2009; KASHYAP et al., 2001; SANTI, 2005).

Considerando as enzimas hidrolíticas, estas incluem as poligalacturonases (PG), que atuam preferencialmente sobre ácidos pécticos e as polimetilgalacturonase (PMG), que têm como substrato preferencial a pectina (SANTI, 2005; UENOJO e PASTORE, 2007).

A poligalacturonase é a hidrolase mais estudada e amplamente utilizada entre as enzimas pectinolíticas. Esta se apresenta sob duas formas: endo-PG e exo-PG. As endo-PG hidrolisam as ligações glicosídicas α , 1-4 internas de forma randômica, causando a despolimerização da molécula e liberando oligômeros de ácidos poligalacturônico. As exo-PG removem as moléculas de ácido D-galacturônico pela hidrólise das ligações glicosídicas α , 1-4 a partir da extremidade não redutora, liberando ácidos di ou monogalacturônico (MARTIN, 2006).

Segundo Santi (2005), pela característica da liberação de seus produtos, a determinação da atividade enzimática das poligalacturonases pode ser medida pela redução de viscosidade de uma solução (para endo-PG) ou pelo aumento da concentração de açúcares redutores (para exo-PG).

Em processos biotecnológicos, a técnica de fermentação no estado sólido (FES) vem contribuindo para a utilização dos resíduos agroindustriais, os quais são utilizados como fonte de carbono e nutrientes para a obtenção de vários produtos de maior valor agregado, dentre estes as enzimas (SANTIAGO et al., 2012).

A fermentação em estado sólido se torna viável quando os agentes de fermentação são fungos filamentosos, pois as condições de cultivo são mais parecidas com o *habitat* natural destes, que adaptados ao meio crescem e excretam maior quantidade de enzimas (PANDEY, 2003; SANTOS, 2007). No entanto, fatores como pH, temperatura, atividade de água, nível de oxigênio, meio de cultura, tipo e concentração da fonte de carbono, são importantes para o desempenho do processo, pois afetam significativamente o crescimento celular e a formação de produto (SANTOS, 2007).

De acordo com Valadão (2005), a fermentação em estado sólido primeiramente leva em conta a importância da sustentabilidade ambiental, que vem sendo prioridade das políticas de pesquisa agropecuária em quase todo o mundo, bem como, na utilização racional dos recursos naturais e de resíduos agrícolas e industriais.

3. METODOLOGIA

3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas da Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola da UFCG, Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Unidade Acadêmica de Engenharia Química da UFCG, Laboratório Experimental de Térmica de Fluidos da Unidade Acadêmica de Engenharia Mecânica da UFCG, Laboratório de Certificação de Biomateriais (CERTBIO) da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da UFCG e no Laboratório de Nutrição e Dietética da Faculdade Maurício de Nassau de Campina Grande – PB.

3.2 MATÉRIA-PRIMA

Os limões Tahiti (*Citrus latifolia Tanaka*) foram adquiridos no comércio local (EMPASA) da cidade de Campina Grande-PB e transportados para o Laboratório de Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

3.3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.3.1 Obtenção da polpa congelada de limão Tahiti

Inicialmente os limões foram pesados, lavados em água corrente e imersos em solução clorada a 10 ppm por 10 minutos. Em seguida enxaguados em água corrente para a retirada do excesso de cloro e submetidos ao processo de seleção, classificação e descascamento para separação da polpa. A seleção foi feita de acordo com o grau de maturação, considerando a coloração e apresentação da superfície da casca, tamanho,

firmeza e aparência. Os frutos excessivamente verdes, com injúrias teciduais e em estágio de maturação avançado foram descartados.

Os limões foram descascados manualmente com facas de aço inoxidável. A polpa foi extraída em uma despolpadeira horizontal de aço inoxidável, Modelo DF-200 (marca Laboremus), refinada em peneira com malha menor que 1,0 mm, envasada em sacos plásticos de polietileno com capacidade de 100 mL e armazenada em um freezer doméstico com temperatura de $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por um período de 180 dias.

3.3.1.1 Rendimento da polpa

O rendimento da polpa foi determinado pela razão entre a massa (kg) de polpa extraída e a massa (kg) do fruto. O resultado foi expresso em porcentagem.

3.3.2 Caracterização físico-química e química da polpa de limão Tahiti

Foram realizadas análises em triplicata para a determinação dos parâmetros físico-químicos e químicos da polpa, antes do congelamento e durante o armazenamento, a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por um período de 180 dias nos tempos de 0, 1, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias.

3.3.2.1 Antes do congelamento e durante o armazenamento

a) Sólidos totais (ST)

Os sólidos totais foram obtidos pela diferença entre o peso total da amostra e o conteúdo de umidade em base úmida da mesma (CECCHI, 1999).

b) Sólidos solúveis totais (°Brix)

Os sólidos solúveis totais foram determinados seguindo a metodologia de Brasil (2005) utilizando o refratômetro digital modelo HI 9680, da marca HANNA.

c) pH

O pH das amostras foi determinado por potenciometria, segundo Brasil (2005), utilizando-se um pHmetro Quimis TEC-2, previamente calibrado com as soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

d) Acidez titulável (ATT)

A acidez titulável foi determinada pelo método AOAC (1997). Os resultados foram expressos em porcentagem de gramas de ácido cítrico por 100 g da amostra.

e) Açúcares redutores (AR)

Os açúcares redutores foram quantificados pelo método do DNS (Miller, 1959), com base na redução do ácido 3,5 dinitrosalicílico a 3-amino-5-nitrosalicílico (DNS) simultaneamente com a oxidação do grupo aldeído do açúcar a grupo carboxílico.

f) Açúcares redutores totais (ART)

A determinação de açúcares totais (AT) foi realizada conforme o método de Miller (1959). Após a diluição das amostras foi feita a hidrólise ácida com a adição de ácido clorídrico (HCl) 2 mol.L^{-1} , seguido de aquecimento por 5 minutos em banho de água fervente. Após resfriamento, a solução foi neutralizada com hidróxido de sódio (NaOH) a 1 mol.L^{-1} . A partir da neutralização foi adotada a mesma metodologia descrita para a determinação de açúcares redutores. A leitura de absorbância das amostras foi feita em um espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 540 nm.

Os cálculos foram efetuados expressando os resultados em gramas de açúcares totais por 100 gramas de amostra inicial (g AT/100 g amostra).

g) Ácido ascórbico (vitamina C)

O ácido ascórbico foi determinado pelo método titulométrico de Tillmans usando o 2-6–diclorofenol–indofenol (DCFI) conforme a AOAC (1992). Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g da polpa.

3.3.3.2 Antes do congelamento

a) Umidade

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico, segundo Brasil (2005), o qual se baseia na perda de peso da amostra submetida a aquecimento à temperatura de 105°C por 24h. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

b) Cinzas

O teor de cinzas foi obtido utilizando-se a metodologia descrita em Brasil (2005), que consiste na carbonização da amostra em mufla à temperatura de 550°C até peso constante. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

c) Atividade de água

A atividade de água foi medida em higrômetro Aqua-Lab digital, modelo CX-2 (Decagon Devices Inc., EUA) com temperatura constante de 25°C.

3.3.3.3 Durante o armazenamento

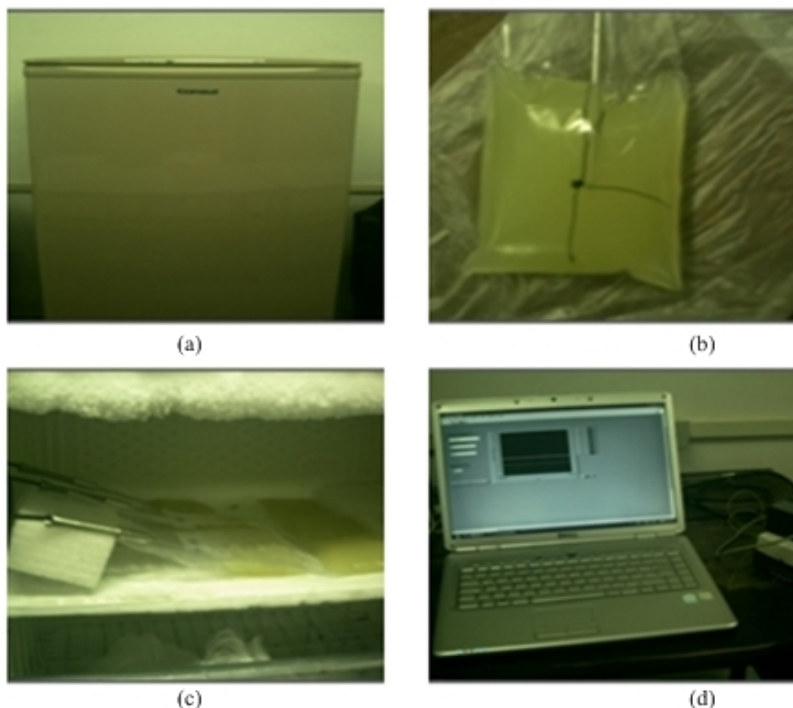
a) Hidroximetilfurfural e furfural

A quantificação do hidroximetilfurfural (HMF) foi realizada com as polpas armazenadas no período de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. Inicialmente, as polpas descongeladas foram filtradas e, em seguida retirou-se 1 mL, o qual foi diluído em água destilada, até perfazer um volume de 25 mL. Alíquotas de 25 μL de cada amostra foram manualmente injetadas no sistema CLAE (cromatógrafo líquido de alta eficiência) com coluna HI-PLEX H, 300 x 7,7 mm IA a 40°C usando como eluente H_2SO_4 0,005 mol.L⁻¹ como fase móvel a 0,6 mL.min⁻¹ e detector UV-visível. Os dados foram registrados e tratados utilizando o software Star Chromatography Workstation, version 6.4. Os resultados foram expressos em miligramas de HMF e furfural por 100 mL da amostra.

3.3.4 Cinética de congelamento da polpa de limão Tahiti

As polpas foram congeladas em um freezer vertical doméstico da marca Cònsul com temperatura de $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Durante o processo de congelamento, as temperaturas das amostras e do freezer foram monitoradas com termopares tipo K (cobre-constantan), sendo um posicionado dentro da amostra (centro geométrico) e o outro no ambiente do congelador, conforme Figura 5. Os dados de temperatura foram registrados a cada minuto até que atingisse a temperatura de equilíbrio ($-20 \pm 2^\circ\text{C}$). O sistema de aquisição de dados NIlabVIEW 8.2, mantinha conexão remota com o computador para o armazenamento dos dados. Os ensaios foram realizados em triplicata, e a partir dos dados de tempo-temperatura foram obtidas as curvas de congelamento.

Figura 5 – Registro dos dados de temperatura: a) freezer doméstico, b) termopar no centro geométrico da amostra, c) termopar no ambiente do congelador, d) sistema de aquisição de dados.

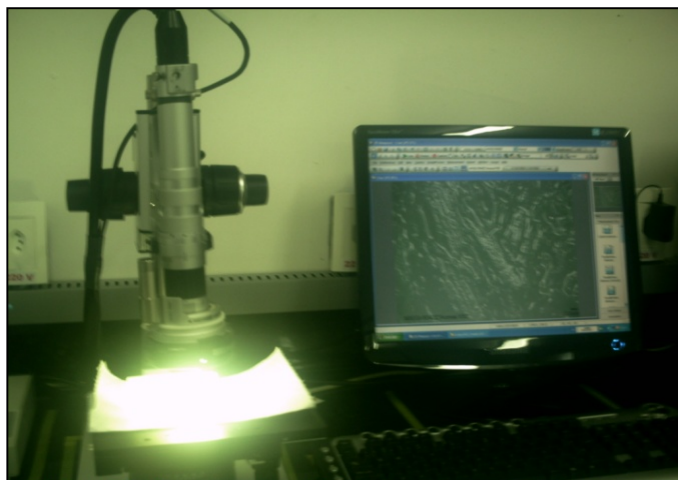


3.3.5 Análise das microestruturas dos cristais de gelo

A microestrutura dos cristais de gelo foi analisada, após congelamento das polpas, em um microscópio óptico (HIROX KH1300) acoplado a um SOFTWARE 2D Measure, conforme Figura 6, disponível no Laboratório de Certificação de Biomateriais (CERTBIO) da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da UFCG.

As imagens das estruturas cristalinas das polpas congeladas foram ampliadas para (100x e 200x) e fotomicrografadas para observação das estruturas dos cristais de gelo formadas no processo de congelamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Figura 6 - Microscópio óptico utilizado para observar as imagens das estruturas cristalinas das polpas congeladas.



3.3.6 Propriedades termofísicas

Durante o período de congelamento foram analisadas as seguintes propriedades termofísicas: massa específica e calor específico.

3.3.6.1 Determinação da massa específica

Foi utilizado o método do picnômetro para a determinação da massa específica da polpa de limão na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e o método do deslocamento da água pela massa do produto para a polpa na temperatura de $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.

a) Método do picnômetro

A massa específica da polpa de limão na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ foi obtida utilizando-se um picnômetro de 25 mL previamente calibrado com água destilada. Em seguida, o mesmo foi preenchido com a amostra na temperatura especificada, pesado em uma balança analítica e sua massa devidamente registrada. O valor da massa específica para a amostra foi calculado pela Equação 1.

$$\rho_A = \rho_{H_2O} \frac{(m_A - m_V)}{(m_{H_2O} - m_V)} \quad (1)$$

Onde:

ρ_A : massa específica da amostra a uma dada temperatura (g.cm^{-3});

ρ_{H_2O} : massa específica da água na mesma temperatura (g.cm^{-3});

m_A : massa do picnômetro completamente cheio com a amostra (g);

m_{H_2O} : massa do picnômetro completamente cheio com água (g);

m_V : massa do picnômetro vazio (g).

b) Método do deslocamento da água

A massa específica da polpa à temperatura de $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ foi obtida pela razão entre a massa da polpa e o seu volume. O volume foi determinado pelo método do deslocamento da água pela massa do produto, segundo MOHSENIN (1978). Primeiramente, foi realizada a pesagem da polpa congelada em uma balança semi analítica com precisão de 0,001g. Em seguida a polpa foi submersa em um becker contendo água, sem tocar sua base, onde se registrou o peso do deslocamento da água pela massa do produto. A leitura da massa da polpa congelada submersa menos o peso do becker + água, corresponde ao peso da massa de água deslocada, que foi substituída na Equação 2 para o cálculo do volume.

$$V = \frac{\text{massa de água deslocada (g)}}{\text{massa específica da água (g.cm}^{-3}\text{)}} \quad (2)$$

que substituído na Equação 3 obteve-se a massa específica pela seguinte relação:

$$\rho_A = \frac{\text{massa da polpa de limão congelada (g)}}{\text{volume da polpa (cm}^3\text{)}} \quad (3)$$

3.3.6.2 Determinação do calor específico

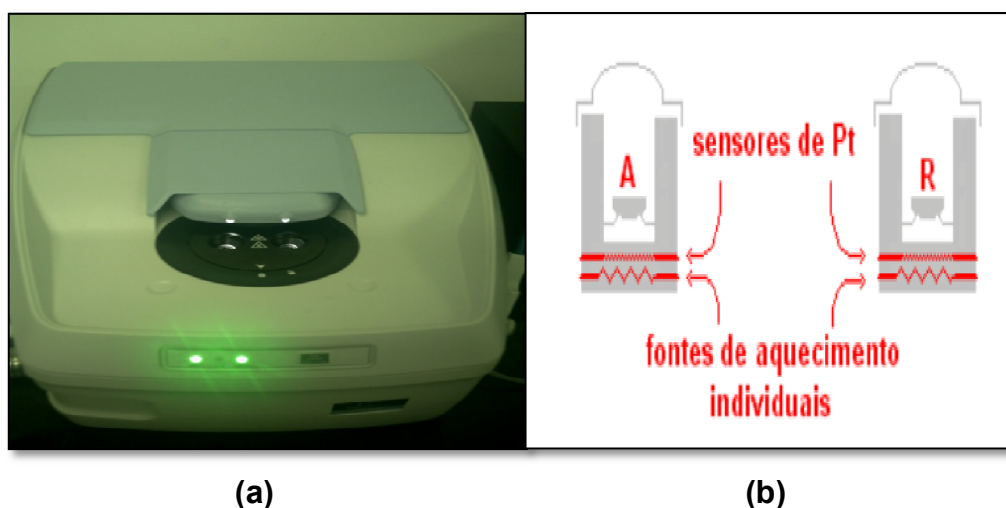
A determinação do calor específico (c_p) foi realizada pelo método de Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC. Os ensaios foram realizados com a polpa de limão em um calorímetro modelo DSC-8500 do tipo compensação de potência da PerkinElmer, disponível no Laboratório de Certificação de Biomateriais da UFCG.

Foram obtidas curvas calorimétricas, após resfriamento e aquecimento das amostras em atmosfera de nitrogênio com vazão de $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ utilizando-se cápsula de alumínio selada, com massa de 15,02 mg e taxas de aquecimento e resfriamento de $1^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$. As temperaturas variaram de 30 a -30°C para o resfriamento e de -30 a 30°C para o aquecimento.

O procedimento foi realizado acoplando a amostra e a referência no calorímetro em compartimentos separados, como mostra a Figura 7, de forma que permanecessem na mesma temperatura durante toda a análise.

Os dados observados nas curvas foram registrados e tratados utilizando o software Pyris R10 Data Analysis, PerkinElmer.

Figura 7 – Aparelho DSC com compensação de potência (a) sensores e fontes de aquecimentos individuais (b).



3.3.7 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Nutrição e Dietética da Faculdade Maurício de Nassau de Campina Grande – PB. A pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFCG. Foram utilizados 50 provadores escolhidos ao acaso, com faixa etária entre 18 e 45 anos e que se declararam não alérgicos ao ácido cítrico.

Para cada tempo de armazenamento especificado (1, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias), foi preparado o suco utilizando 100 g da polpa congelada, 500 mL de água mineral, correspondendo uma diluição de 1:5 (v : v) e 55 g de sacarose. O suco foi distribuído em copos plásticos descartáveis de 50 mL codificados com números aleatórios.

As amostras foram analisadas quantitativamente pelos provadores através do teste de aceitação quanto aos atributos (sabor, aroma e aparência) e a intenção de compra (QUADRO-1). Para o teste de aceitação foi utilizada escala hedônica híbrida com variação de um a nove, com extremos em (1) “desgostei muitíssimo” e (9) “gostei muitíssimo”, onde os provadores expressaram o quanto gostaram/desgostaram da amostra. Com relação à intenção de compra, foi avaliado se compraria ou não o produto.

3.3.8 Análise estatística

Os dados da análise sensorial e dos parâmetros físico-químicos das polpas foram analisados por meio do software estatístico R. Foram utilizadas as técnicas da Análise exploratória dos dados e Comparações múltiplas.

Quadro 1 – Ficha de avaliação do teste de aceitação e intenção de compra do suco da polpa congelada de limão Tahiti.

AMOSTRA:	JULGADOR:	DATA:
<p>Você está recebendo uma amostra de suco da polpa congelada de limão Tahiti, avalie a amostra quanto aos atributos sensoriais (sabor, aroma e aparência) e intenção de compra.</p>		
9 - gostei muitíssimo	()	sabor
8 – gostei muito	()	aroma
7 – gostei moderadamente	()	aparência
6 – gostei ligeiramente		
5 – nem gostei/nem desgostei		
4 – desgostei ligeiramente		
3 – desgostei moderadamente		
2 – desgostei muito		
1 – desgostei muitíssimo		
<p>Comentários:</p>		
<p>Intenção de compra:</p>		
1 – decididamente eu compraria		
2 – provavelmente eu compraria		
3 – talvez sim/ talvez não		
4 – provavelmente eu não compraria		
5 – decididamente eu não compraria		

3.3.9 Aproveitamento do resíduo (albedo seco)

3.3.9.1 Obtenção do resíduo seco do albedo de limão Tahiti

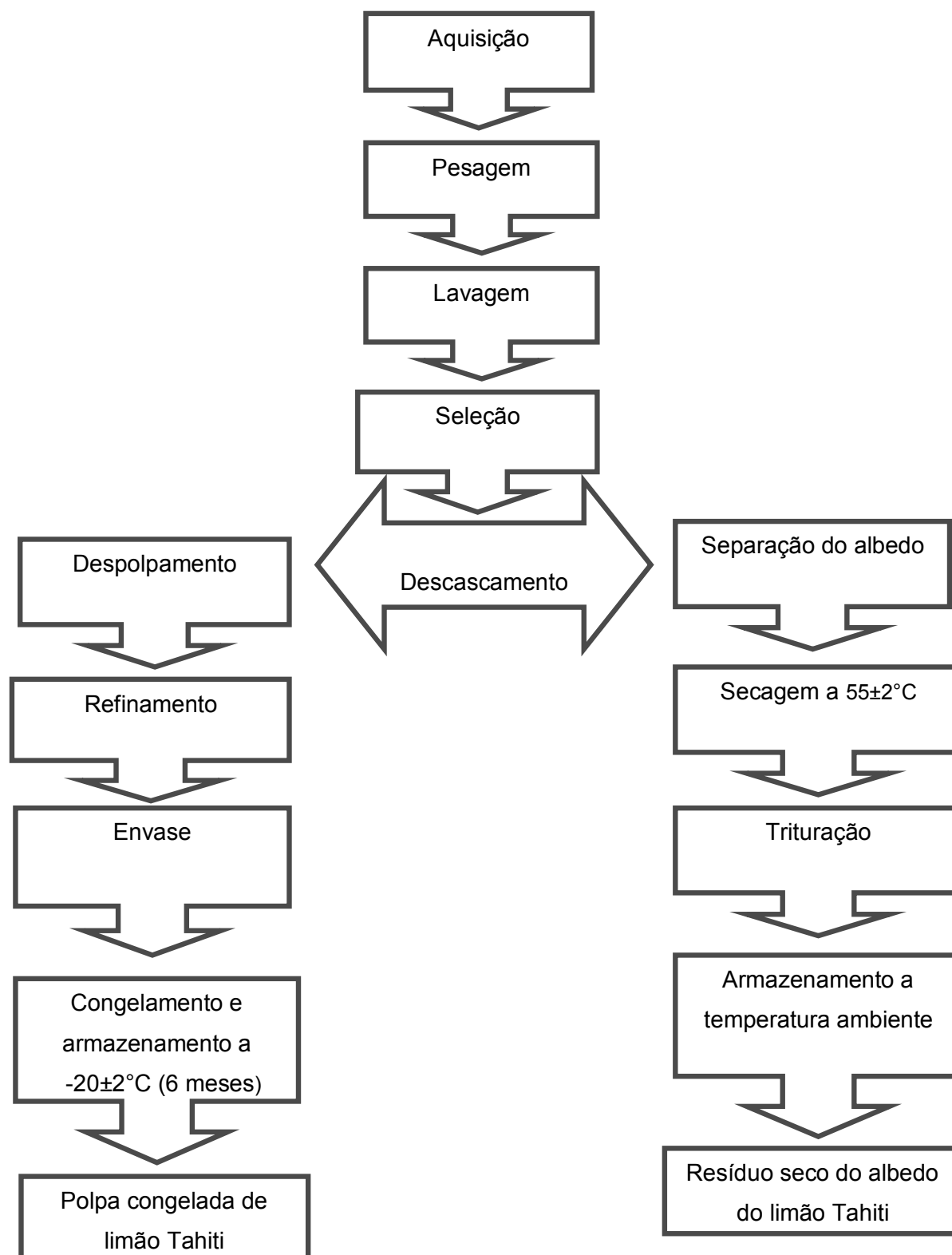
O albedo foi separado manualmente, colocado em bandejas de alumínio em estufa com circulação forçada de ar a temperatura de $55 \pm 2^\circ\text{C}$ até massa constante. Após a secagem, o mesmo foi triturado em moinho de facas da marca TECNAL para obtenção da granulometria adequada no processo de fermentação em estado sólido para produção da enzima poligalacturonase. Desse albedo triturado foi retirado aproximadamente 150 g para a realização da caracterização físico-química. O restante foi armazenado à temperatura ambiente em recipiente de vidro hermeticamente fechado para ser utilizado no processo fermentativo.

3.3.9.2 Caracterização do albedo seco do limão Tahiti

Foram realizadas em triplicata as seguintes análises físico-químicas e químicas: umidade, pH, cinzas, atividade de água, proteína, açúcares redutores (AR) e pectina. A determinação do pH, cinzas e umidade foi realizada segundo metodologia descrita em Brasil (2005). O teor de açúcar redutor foi determinado pelo método de Miller (1959). A pectina foi quantificada pela metodologia descrita por Rangana (1979). O teor de proteína foi determinado utilizando o método semi micro Kjeldahl com adaptação para UV visível a 410 nm, de acordo com a metodologia de Silva (1998) e a atividade de água (A_w) foi realizada em higrômetro Aqua-Lab digital, modelo CX-2 (Decagon Devices Inc., EUA), a uma temperatura constante de 25°C .

A Figura 8 representa as etapas de obtenção da polpa congelada e do resíduo seco do albedo do limão Taiti.

Figura 8 – Etapas de produção da polpa congelada e do resíduo seco do limão Tahiti.



3.3.10 Processo fermentativo utilizando o albedo seco do limão Tahiti

A fermentação no estado sólido foi conduzida segundo os parâmetros otimizados por Santiago (2012), que determinou como melhores condições para produção da exopoligalacturonase utilizando cascas secas de umbu, um meio com 60% de umidade, 1,5% de fonte de nitrogênio e 10^7 de esporos de *Aspergillus niger* CCT 0916 por grama do meio.

3.3.10.1 Micro-organismo

O micro-organismo empregado foi *Aspergillus niger* CCT 0916, modificado geneticamente para a produção de pectinases, cedido pela Embrapa Agroindústria Tropical, com sede em Fortaleza – CE.

3.3.10.2 Preparo do inóculo

De acordo com procedimento adotado por Couri (1993), os conídios foram retirados do solo estéril com uma alça de platina e transferidos para tubos de ensaios contendo um meio básico, esterilizado em autoclave por 20 minutos a 0,5 atm, constituído de: pectina cítrica (10 g.L^{-1}), NaNO_3 (3 g.L^{-1}), KH_2PO_4 (1 g.L^{-1}), MgSO_4 ($0,5 \text{ g.L}^{-1}$), KCl ($0,5 \text{ g.L}^{-1}$), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($0,01 \text{ g.L}^{-1}$) e ágar-ágar (20 g.L^{-1}). Os tubos de ensaio foram inclinados e resfriados a temperatura ambiente. Os tubos foram incubados por cinco dias em estufa a 30°C . Em seguida foram mantidos sob refrigeração por um período máximo de quatro meses. Este foi denominado de primeiro repique. Para obtenção do segundo repique foram transferidos, do primeiro repique com auxílio da alça de platina, esporos para outro meio básico similar ao primeiro, descrito anteriormente, e incubados a temperatura de 30°C durante cinco dias. Após este período foi utilizado um meio de sabugo de milho para produção de grande quantidade de conídios.

O meio contendo o sabugo de milho foi preparado de acordo com o protocolo da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, com sede no Rio de Janeiro (RJ). Este meio era composto de uma solução A (20 g de fosfato de potássio monobásico dissolvido em água destilada e transferido para um balão volumétrico de 100 mL) e uma solução B (3,96 g de sulfato de zinco, dissolvido em um pouco de água destilada em seguida adicionado 4,60 g de sulfato de ferro, 0,01 g de sulfato de manganês e 0,5 mL de ácido sulfúrico PA. Após completa dissolução, transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL o qual foi aferido com água destilada). Em seguida foi feita uma solução umidificante (2,8 g de peptona foram dissolvidas em um pouco de água destilada e transferida para um balão volumétrico de 50 mL). Foi adicionado a esta solução 0,19 da solução A e 0,025 da solução B e completado o volume do balão com água destilada.

Em cada erlenmeyer de 125 mL, foi pesado 4,6 g de sabugo de milho seco e moído e foi adicionado 6 mL da solução umidificante. Os frascos foram fechados com tampão de algodão envolvido com gaze, homogeneizado e esterilizado em autoclave a 120°C por 30 minutos.

Para inoculação no meio de sabugo de milho, foi transferido 10 mL de solução 0,3% (v/v) de Tween 80 para tubos com os micro-organismos do segundo repique. Com auxílio de uma alça de platina, os micro-organismos foram suspensos e transferidos, 1 mL, para cada frasco que continha o meio com o sabugo de milho. Os frascos foram incubados em estufa a 30°C por um período de 5 dias. Após este período, os frascos foram armazenados sob refrigeração e utilizados como inóculo nos ensaios de fermentação.

3.3.10.3 Preparo do meio

Foram pesados em um béquer 80 gramas do resíduo seco do albedo do limão. Em seguida foi calculada a quantidade de água a ser adicionada no meio, para que o resíduo ficasse com umidade de 60%, conforme Equação 4. A quantidade da fonte de nitrogênio, sulfato de amônio (1,5%), foi diluído na quantidade de água destilada a ser adicionada ao meio. Em seguida o meio umidificado foi homogeneizado. Após a

homogeneização, foram distribuídos 10 gramas desse meio úmido nos erlenmeyer de 250 mL os quais foram tampados com tampão de algodão envolvido com gaze e levados para a autoclave. Após a esterilização, foram resfriados à temperatura ambiente.

$$m_{H_2O} = m_{RES} \frac{(u_2 - u_1)}{(1 - u_2)} \quad (4)$$

Onde:

m_{H_2O} : massa de água requerida para hidratação do meio;

m_{RES} : massa do resíduo seco utilizado na fermentação;

u_1 : umidade presente no resíduo seco em base úmida;

u_2 : umidade requerida pelo processo fermentativo.

3.3.10.4 Obtenção da suspensão de esporos e quantificação

A suspensão de esporos para inoculação foi obtida adicionando-se 40 ml de solução de Tween 80 (0,3% v/v) nos frascos de sabugo de milho com esporos. Após agitação para liberação dos esporos, a mistura foi filtrada com auxílio de gaze e funil esterilizado para separação das partículas de sabugo. O filtrado rico em esporos foi recolhido em um becker de 80 mL.

Para a quantificação do número de esporos obtidos na suspensão, foi realizada uma contagem utilizando uma câmara de Neubauer espelhada e um microscópio óptico.

Inicialmente foi feita uma diluição para facilitar a visualização e contagem dos esporos presentes na câmara de Neubauer. A diluição foi feita da seguinte forma: 1 mL da suspensão de esporos foi adicionado a 39 mL de Tween 80 0,3% v/v estéril. Após homogeneização, uma alíquota da mistura foi recolhida e transferida para a câmara de Neubauer. Em seguida foi feita a contagem dos esporos no microscópio e calculado o número de esporos utilizando a Equação 5.

$$\text{Contagem de esporos} = \frac{\sum nq \times 25 \times fd \times 10^4}{n} \quad (5)$$

Onde:

$\sum nq$ - Soma algébrica do número de esporos contados nos n quadrículos

25 - Número total de quadrículos na câmara

fd - Fator de diluição utilizado

10^4 – Constante padrão da câmara

n – Número de quadrículos contados, dentro dos 25 disponíveis.

Mediante a concentração de esporos, foi calculado o volume a ser tomado da suspensão para inocular 10^7 esporos por grama do meio a fermentar (Equação 6).

$$V = \frac{\text{Concentração de esporos desejada} \times \text{massa de substrato}}{\text{contagem de esporos}} \quad (6)$$

Onde:

Concentração de esporos desejada = 10^7

Massa de substrato = 10g

3.3.10.5 Inoculação e incubação do meio

Após a esterilização e resfriamento do meio de cultivo foram inoculados 10^7 esporos/grama de meio em cada erlenmeyer, os quais foram incubados em estufa bacteriológica a temperatura de $30 \pm 2^\circ\text{C}$. O processo fermentativo teve duração de 72 horas. Foram retiradas amostras periodicamente durante o processo (0, 7, 22, 30, 44, 50, 66, 72 horas de fermentação) para a realização das seguintes análises: umidade, açúcares redutores, pH e atividade exo-poligalacturonásica (APG). A extração do complexo enzimático também foi feita a cada intervalo de tempo citado.

3.3.10.6 Extração e determinação da atividade enzimática

A extração do complexo enzimático foi realizada adicionando-se $5,0 \text{ mL.g}^{-1}$ ao meio fermentado de tampão acetato de sódio 200 mol.L^{-1} pH 4,5. Após homogeneização, as

amostras foram mantidas durante 1 hora em banho termostático a 30°C. Em seguida foram filtradas em papel de filtro Whatman 1 e determinada a atividade enzimática, segundo a metodologia de Couri (1993).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Este capítulo apresenta os resultados obtidos nos experimentos com as respectivas discussões. Primeiramente são apresentados os resultados do rendimento da polpa extraída e resíduo. Em seguida têm-se a caracterização físico-química e química da polpa de limão in natura e armazenada por 180 dias a -20 ± 2 °C como também a cinética de congelamento para avaliação das curvas de congelamento e determinação das temperaturas de início de congelamento. Também são apresentadas as microestruturas dos cristais de gelo da água disponível da polpa de limão congelada a -20 ± 2 °C, seguida da determinação das propriedades termofísicas como massa específica e calor específico da polpa nas temperaturas de 25 e -20 °C. E por fim a análise sensorial dos sucos preparados com as polpas armazenadas por 180 dias e o aproveitamento do albedo seco utilizado como fonte de carbono no processo de fermentação em estado sólido na produção da enzima poligalacturonase.

4.1 CÁLCULO DO RENDIMENTO

Para o processamento da polpa foram utilizados 100 limões que correspondeu, em média a 50,16% de polpa extraída e 49,83% de resíduo. Considerando o resíduo, o rendimento obtido foi de 10,37%, 20,51% e 18,95% para o flavedo, albedo e bagaço, respectivamente. Esses resultados estão resumidos nas Tabelas 2 e 3.

TABELA 2 – Massa e rendimento do limão Tahiti da polpa extraída e do resíduo.

Componentes	Massa (kg)	Rendimento (%)
100 Limões	12,190	100
Polpa extraída	6,115	50,16
Resíduo	6,075	49,83

TABELA 3 – Massa e rendimento das frações do albedo, flavedo e bagaço presentes no resíduo do limão Tahiti.

Frações do resíduo	Massa (kg)	Rendimento (%)
Flavedo	1,264	10,37
Albedo	2,501	20,51
Bagaço	2,310	18,95

De acordo com os resultados, observa-se que o rendimento obtido de 50,16% de polpa correspondeu um pouco mais da metade da massa do fruto, sendo o restante 49,83% atribuído ao resíduo. Resultados semelhantes foram relatados por Mendonça et al. (2006) que obtiveram os mesmos percentuais para a fração de suco e resíduos do limão Tahiti. Entretanto, Viana (2010) avaliando sucos integrais de lima ácida convencional Tahiti, obteve rendimentos de 52,60% para o suco extraído e 40,60% para os resíduos. Rendimentos inferiores ao encontrado neste trabalho foram reportados por Pedrão et al. (1999) 47%; Jamori (2005) 42,26% e Barboza Júnior (2007) 49,26% para o suco de limão convencional, cv. Tahiti.

Pio (1997) estudando variedades de tangerinas obteve percentuais de suco variando de 40 a 48%, o que denota que o limão Tahiti, apresenta um rendimento de polpa expressivo para o seu processamento.

Como a quantidade do resíduo do limão gerada é bastante elevada, o seu aproveitamento é uma alternativa para obtenção de óleos essenciais, pectina, vitamina C e fibras, como também pode ser usado na alimentação humana e ração animal, além da produção de produtos de alto valor comercial, como as enzimas.

4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E QUÍMICA DA POLPA DE LIMÃO ANTES DO CONGELAMENTO

Os resultados médios e desvio padrão das avaliações físico-químicas e químicas, realizadas na polpa de limão antes do congelamento, estão descritos na Tabela 4.

TABELA 4 – Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos e químicos da polpa in natura de limão.

Parâmetros	Valores médios	Desvio padrão
pH	2,067	0,006
Acidez titulável em ácido cítrico (%)	6,750	0,019
Sólidos totais (%)	7,373	0,050
Sólidos solúveis (°Brix)	8,167	0,058
Açúcares totais (%)	1,320	0,004
Açúcar redutor (%)	1,041	0,013
Vitamina C (mg/100mL)	28,400	0,693
Umidade (% b.u)	92,627	0,070
Cinzas (%)	0,221	0,020
Atividade de água (A_w)	0,995	0,000

O valor obtido para o pH de 2,067 está próximo do reportado por Durigan et al. (2005) que foi de 2,0. Porém, inferior aos obtidos por Pedrão et al. (1999) 2,75, Marín et al. (2002) 2,80, Viana (2010) 2,70 e Brighenti et al. (2011) 2,23 para sucos de limão frescos. Tendo em vista que a avaliação do pH é um parâmetro importante quando se processa o fruto para a produção industrial de polpa, o resultado obtido na presente pesquisa não pode ser considerado fora do padrão, já que não há especificação na Instrução Normativa Vigente do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sobre o valor mínimo permitido .

A acidez em ácido cítrico de 6,75% encontra-se dentro dos Padrões de Identidade e Qualidade preconizada pela legislação brasileira, que estabelece valor mínimo de 5,0 g de ácido cítrico/100g amostra (BRASIL, 2000). Porém, foi superior aos valores obtidos por Pedrão et al. (1999) 5,56%; Marín et al. (2002) 5,53%; Viana (2010) 5,72% e próximo aos relatados por Ziena (2000) 6,33%, Neves et al. (2008) 6,30% e Brighenti et al. (2011) 6,19 .

O teor de 7,373% de sólidos totais está abaixo dos valores reportados por Gouveia et al. (2006) 29,108% para polpa de pinha com 28 Brix e por Benevides et al. (2008) 15,970% para polpa de manga com 16 °Brix. Com relação aos sólidos solúveis o

teor de 8,167% foi próximo aos encontrados por Pedrão et al. (1999) 8,9%; Viana (2010) 8,5% e semelhante ao de Neves et al. (2008) 8,2%.

O conteúdo de vitamina C de 28,40 mg/100 mL apresenta-se abaixo do valor obtido por Pedrão et al. (1999) 34 mg/100 mL e Neves et al. (2008) 34,3 mg/100 mL. Entretanto, está acima do mínimo estabelecido (20 mg/100 mL) pelo regulamento técnico (BRASIL, 2005) para fixação dos padrões de identidade e qualidade para suco de limão. O suco do limão é relativamente pobre em vitamina C quando comparado com caju, tangerinas, acerola, goiaba e kiwi. Porém, o limão tem 5 vezes mais vitamina C na sua casca: 150 mg/100g, enquanto que no seu suco é encontrado 20-50 mg/100mL.

A umidade de 92,63% foi superior aos resultados de Scapiari et al. (2008) 88,26% para suco de limão galego e de Viana (2010) que obteve teores de 88,63% e 91,83% para sucos de lima ácida convencional e orgânica, respectivamente.

O percentual para o AT de 1,32% está abaixo dos obtidos por Silva et al. (2005) 8,42% para o suco de acerola e próximo aos de Benevides et al. (2008) 1,50% para a polpa de manga. Para os açúcares redutores o valor de 1,04% está um pouco acima do citado por Pereira (2009) 0,9% e abaixo do obtido por Brighenti et al. (2011) 3,03% para o suco limão Tahiti. O teor de açúcar no fruto é um fator intrinsecamente relacionado com o genótipo, ambiente e manejo de cultivo e estágio de maturação, sendo um parâmetro importante na produção de frutos destinados à indústria de sucos, pois permite melhor rendimento no processamento (FERREIRA et al., 2009).

O percentual de 0,22% para as cinzas está abaixo dos valores obtidos por Viana (2010) 0,37% para o suco de limão e por Scapiari et al. (2008) 0,30 para o suco de limão galego.

A alta atividade de água 0,99 encontra-se dentro da faixa observada na literatura (CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA, 2008) que é $\geq 0,98$ para sucos cítricos.

A maioria dos valores obtidos encontra-se dentro da faixa citada na literatura para frutos in natura, porém, algumas variações podem estar associadas a fatores como o clima, tempo de colheita, variedade, solo e grau de maturação.

4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E QUÍMICA DA POLPA CONGELADA DURANTE 180 DIAS DE ARMAZENAMENTO A $-20 \pm 2^\circ\text{C}$

As médias e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos e químicos das polpas de limão armazenadas a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ por 180 dias estão apresentadas na Tabela 5. Os resultados revelaram que para cada tempo de armazenamento as médias obtidas foram representativas, já que o coeficiente de variação foi menor que 0,5.

Tabela 5 – Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos e químicos das polpas de limão durante o armazenamento a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.

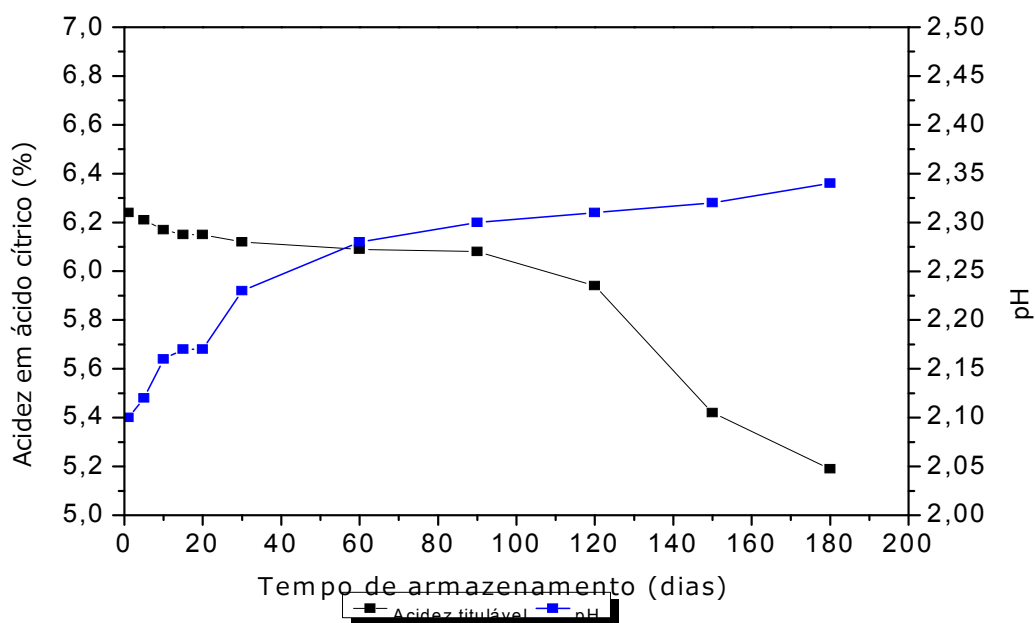
Tempo de armazenamento (dias)	Parâmetros				
	pH	Acidez em ácido cítrico (%)	Sólidos solúveis ($^\circ\text{Brix}$)	Vitamina C (mg/100mL)	Açúcar redutor (%)
1	2,103(0,006)	6,242(0,019)	8,200(0,000)	27,600(1,200)	1,306(0,023)
5	2,120(0,000)	6,208(0,019)	8,200(0,000)	27,200(0,693)	1,348(0,014)
10	2,160(0,000)	6,175(0,019)	8,133(0,058)	26,800(0,693)	1,409(0,110)
15	2,167(0,000)	6,153(0,019)	8,067(0,058)	26,400(1,200)	1,444(0,024)
20	2,160(0,000)	6,133(0,004)	8,100(0,000)	26,000(0,693)	1,722(0,000)
30	2,227(0,006)	6,120(0,019)	8,033(0,058)	25,600(0,693)	1,764(0,003)
60	2,280(0,000)	6,090(0,000)	8,000(0,000)	24,800(1,386)	1,905(0,034)
90	2,300(0,000)	6,076(0,019)	7,767(0,058)	24,000(0,000)	2,012(0,003)
120	2,303(0,006)	5,943(0,019)	7,767(0,058)	23,200(0,693)	1,458(0,003)
150	2,320(0,000)	5,424(0,038)	7,800(0,000)	22,800(1,200)	1,449(0,003)
180	2,337(0,006)	5,192(0,019)	7,300(0,000)	20,4000(1,200)	1,420(0,002)

Os valores de pH variaram de 2,103 a 2,337 e a acidez titulável, expressa em ácido cítrico, variou de 6,242 a 5,192% durante o período de armazenamento. Pedrão et al. (1999) obteve variações de 2,66 a 2,75 para o pH e de 5,46 a 5,59% para acidez em ácido cítrico, avaliando o suco congelado de limão Tahiti durante 60 dias de armazenamento a -18°C . Entretanto, Albuquerque et al. (2002) obtiveram variações de 2,11 a 2,17 para o pH e de 1,75 a 1,78% para acidez titulável da polpa congelada de umbu cajá no estágio de maturação do fruto totalmente amarelo, durante 60 dias de

armazenamento na faixa de -18 a -20°C . Lopes et al. (2005) avaliando polpa congelada de pitanga durante 90 dias de armazenamento a -18°C , encontraram valores de pH entre 3,27 e 3,40 e acidez titulável de 1,24 a 1,25. Verifica-se que até os primeiros 60 dias de armazenamento da polpa de limão, os resultados apresentaram comportamento semelhante aos reportados na literatura para diferentes frutas. Sendo as variações ocorridas a partir deste tempo, possivelmente, relacionadas à especificidade de cada fruta, já que durante o armazenamento podem ocorrer alterações na sua composição.

Os valores apresentados para o pH e acidez titulável mostram que durante o armazenamento houve uma variação na acidez, como pode ser observado na Figura 9. Tal variação pode estar relacionada às reações químicas de hidrólise ou oxidação que alteram a concentração de íons de hidrogênio e consequentemente, a acidez do produto (MACHADO, 2010).

Figura 9 – Relação entre a acidez titulável e o pH da polpa de limão durante o armazenamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

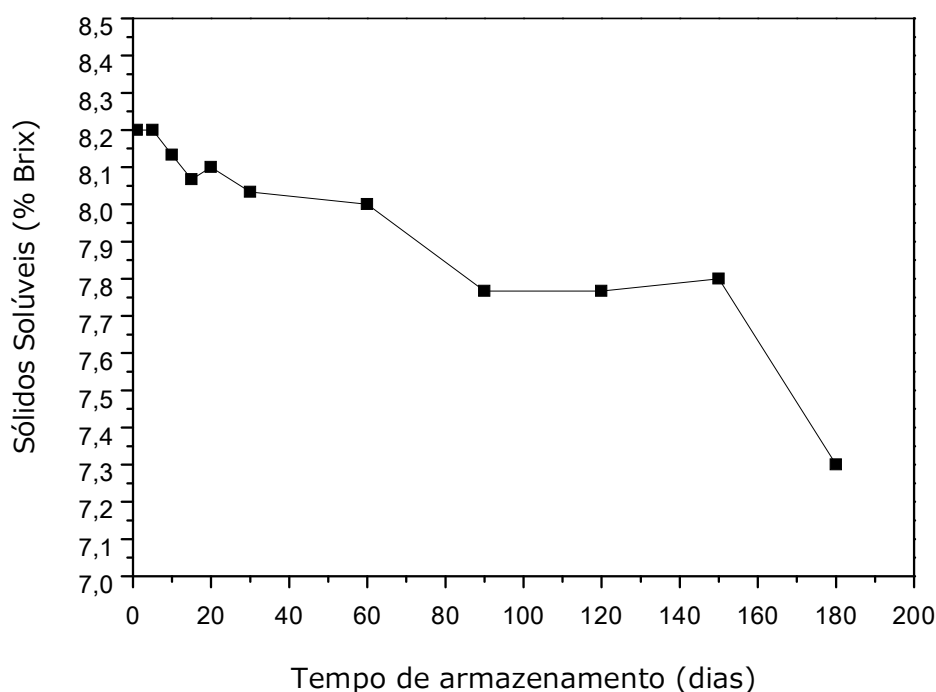


Os teores médios de sólidos solúveis apresentaram valores mínimos e máximos de 7,3 e 8,2%, respectivamente. Variações de 11 a 11,25% foram reportadas por Albuquerque Lima et al. (2002) para a polpa congelada de umbu cajá armazenada por

60 dias e por Lopes et al. (2005) de 10,73 a 11,47% durante 90 dias de armazenamento da polpa de pitanga.

Pode-se observar na Figura 10, que os sólidos solúveis praticamente, não variaram até 60 dias, sendo observada uma diminuição a partir de 90 dias. Essa diminuição, possivelmente poderá estar associada a reações químicas que, embora lentamente ainda ocorrem durante o armazenamento, como também o crescimento dos cristais de gelo decorrentes do processo de congelamento lento.

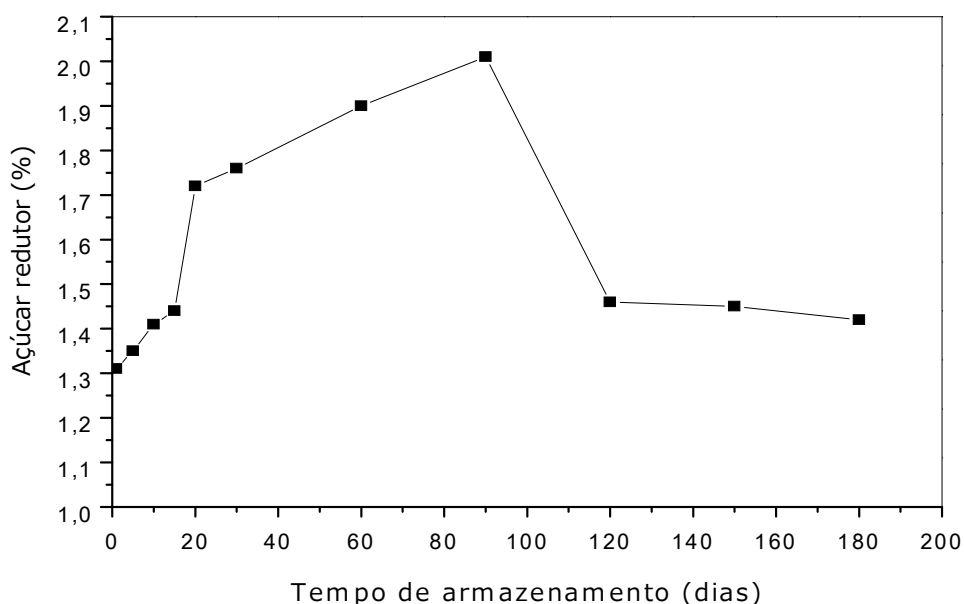
Figura 10 – Teores médios de sólidos solúveis (% Brix) da polpa de limão durante o armazenamento a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.



Os açúcares redutores apresentaram teores variando entre 1,31 e 2,01%. Observa-se que houve acréscimo até 90 dias e a partir de 120 dias diminui com o tempo de armazenamento (FIGURA 11). Este aumento inicial pode ser decorrente da concentração destes durante o congelamento, pela diminuição da atividade de água durante o congelamento, o que favorece uma maior interação entre os componentes, como também segundo Fennema et al. (2010) a pectina em meio ácido é hidrolisada originando açúcares de baixo peso molecular. Esta oscilação também foi observada por Silva et al. (2010) no estudo da estabilidade da polpa de bacuri durante 12 meses de

armazenamento, os quais obtiveram valores entre 8,0 e 8,56. Entretanto, Evangelista et al. (2006) avaliaram a qualidade de polpa de goiaba congelada durante 9 meses e encontraram valores entre 5,1 e 7,69. Ciabotti et al. (2000) avaliando a polpa de maracujá armazenada durante 6 meses e Lopes et al. (2005) durante 90 dias de estocagem da polpa de pitanga, verificaram que os açúcares redutores se mantiveram de um modo geral estáveis. No entanto, os referidos autores não inferem sobre o fenômeno ocorrido.

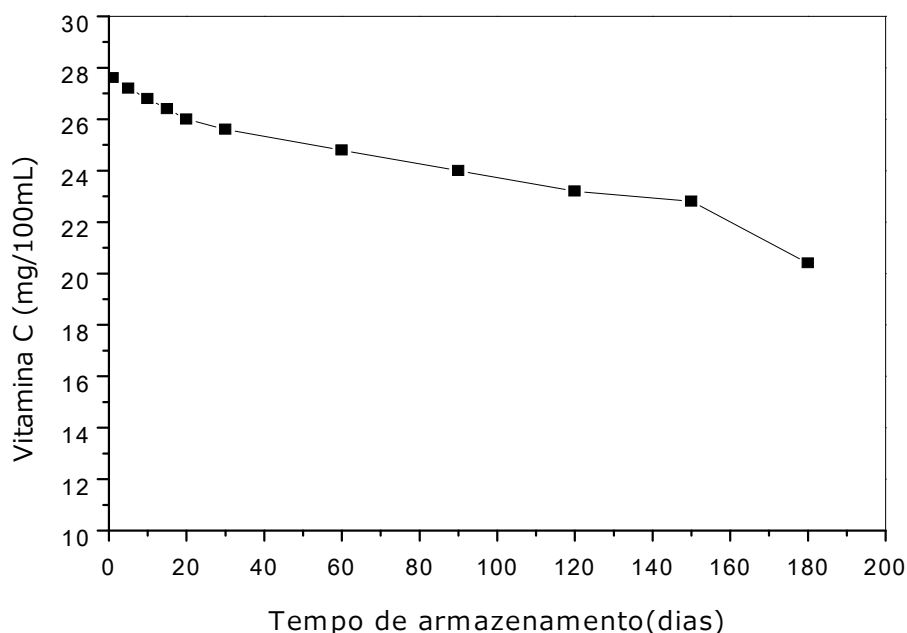
Figura 11 - Teores médios de açúcares redutores (%) da polpa de limão durante o armazenamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.



A vitamina C apresentou um valor máximo de 27,60 mg/100 mL no 1º dia de armazenamento e mínimo de 20,40 mg/100 mL após 180 dias.

Na Figura 12, pode ser observado que após o primeiro dia de armazenamento houve uma perda de 2,82% e no último dia (180) foi de 26,08%. Apesar da redução, o teor de ácido ascórbico, após 180 dias de armazenamento, ainda permaneceu próximo do mínimo estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2000) de 20mg/100mL. Pedrão et al. (1999) avaliando a estabilidade do suco de limão congelado verificou uma redução de 30,3 mg/100mL no 1º dia para 28,7 mg/100mL ao final de 60 dias de armazenamento a -18°C .

Figura 12 – Teores médios de vitamina C da polpa de limão durante o armazenamento a $20 \pm 2^\circ\text{C}$.



Avaliando a estabilidade da vitamina C em polpa de acerola armazenada a -12°C e -18°C , Yamashita et al. (2003) verificaram uma pequena perda ($\sim 3\%$) após 4 meses de armazenagem. Os mesmos autores constataram que a estabilidade da vitamina C depende tanto do tipo de processamento como da temperatura de armazenagem.

Redução de 25,7% foi constatada por Brunini et al. (2003) para a polpa de goiaba armazenada a -20°C durante 18 semanas, e de 79,33% por Sebastiany et al. (2009) para a polpa de acerola armazenada a -18°C durante 12 semanas. Entretanto, Ciabotti et al. (2000) avaliando a polpa de maracujá armazenada em temperatura de $-22,6^\circ\text{C}$ e -196°C concluíram que os métodos de congelamento não interferiram na estabilidade do ácido ascórbico, ou seja, ambos permaneceram com teores estáveis.

Segundo Chitarra (1994), os níveis de vitamina C são totalmente variáveis entre citros e tendem a reduzir sazonalmente e com o armazenamento.

A redução dos teores de vitamina C durante o armazenamento a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ da polpa de limão, provavelmente poderá estar associada a deficiências do processo produtivo, características da matéria prima, presença de oxigênio dissolvido no produto ou nos espaços livres da embalagem, tipo de embalagem, enzimas, tipo de congelamento (visto que as reações oxidativas são aceleradas no congelamento lento), bem como a temperatura e o tempo de estocagem.

4.3.1 Determinação da concentração do hidroximetilfurfural (HMF) e furfural durante o armazenamento a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$

Na Tabela 6 estão os teores de HMF e furfural quantificados durante 30, 60, 90, 120 e 180 dias de armazenamento das polpas congeladas de limão.

Os resultados mostraram que durante o armazenamento os teores obtidos destes compostos foram detectados a partir de 90 dias, variando de 0,06 para 0,40 de HMF e 0,05 para 0,29 para o furfural até os 180 dias de estocagem a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Neste caso, pode-se atribuir uma provável oxidação do ácido ascórbico ou degradação de açúcares (monossacarídeos), tendo em vista que neste trabalho não foi realizada a etapa de inativação enzimática.

Tabela 6 – Teores de HMF e furfural durante o armazenamento da polpa de limão Tahiti.

Tempo de armazenamento (dias)	Teor (mg/mL)	
	HMF	Furfural
30	0	0
60	0	0
90	0,06	0,05
120	0,26	0,12
150	0,37	0,13
180	0,40	0,29

Segundo Cheftel e Cheftel (1992), sucos e concentrados de frutas cítricas, tais como limão e pomelo com pH entre 2,0 e 3,5, praticamente não são afetados pela reação de Maillard, devido à alta acidez e por serem pobres em compostos aminos. Logo, as reações responsáveis pelo escurecimento durante o armazenamento, destes produtos são as de degradação do ácido ascórbico que são catalisadas pelo ácido cítrico ou por enzimas oxidase.

A Figura 13 mostra uma polpa de limão com 180 dias de armazenamento a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$. Observa-se que a possível degradação de ácido ascórbico, associada à produção

de HMF e furfural não foi significativa para promover aparentemente o escurecimento da polpa.

Figura 13 – Polpa de limão congelada e armazenada por 180 dias.



Fonte: Autora

Verificando a estabilidade do ácido ascórbico e a qualidade do suco de laranja Kennedy et al. (1992); Solomon et al. (1995) mencionaram que compostos indesejáveis da degradação do ácido ascórbico como furfural e HMF têm sido altamente correlacionados com o escurecimento de sucos de fruta, resultando na redução do valor nutricional, perda de qualidade e, conseqüentemente, da vida de prateleira.

Burdurlu et al. (2006) no estudo da cinética de degradação do ácido ascórbico e a formação do HMF (Hidroximetilfurfural) em sucos cítricos concentrados de laranja, limão e tangerina armazenados por oito semanas em temperaturas de 28, 37 e 45°C, encontraram uma correlação significativa entre a diminuição do ácido ascórbico e a formação de HMF.

4.5 CINÉTICA DE CONGELAMENTO DA POLPA DE LIMÃO TAHITI

Para a realização da cinética de congelamento, as polpas de limão foram resfriadas a partir da temperatura ambiente até $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Efetuou-se o processo de congelamento em três ensaios, realizados em triplicata, para avaliação das curvas que melhor representassem a cinética de congelamento da polpa de limão, bem como, a determinação das temperaturas de início de congelamento.

Nas Figuras 14, 15 e 16 são mostradas as curvas de congelamento construídas a partir dos dados de temperatura a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, registrados durante os ensaios do processo de congelamento da polpa de limão Tahiti.

Figura 14 – Curva de congelamento da polpa de limão à temperatura de $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (Ensaio I).

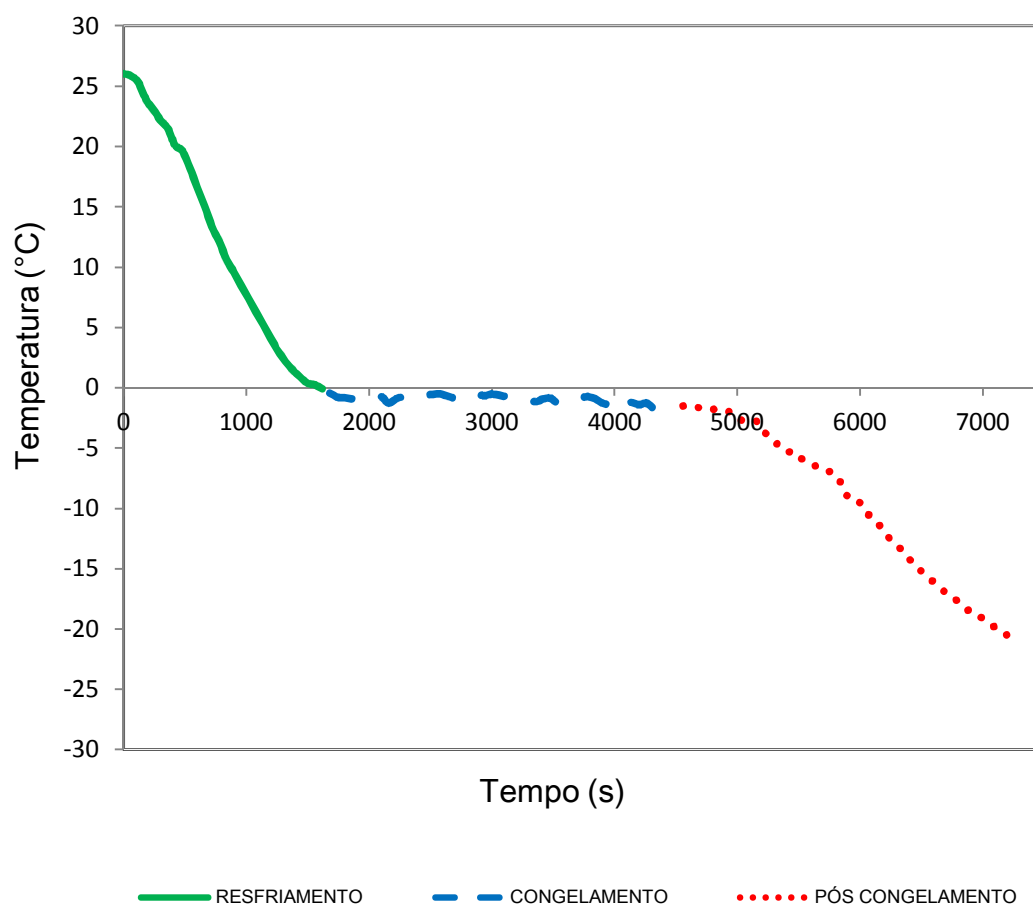


Figura 15 - Curva de congelamento da polpa de limão à temperatura de $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ (Ensaio II).

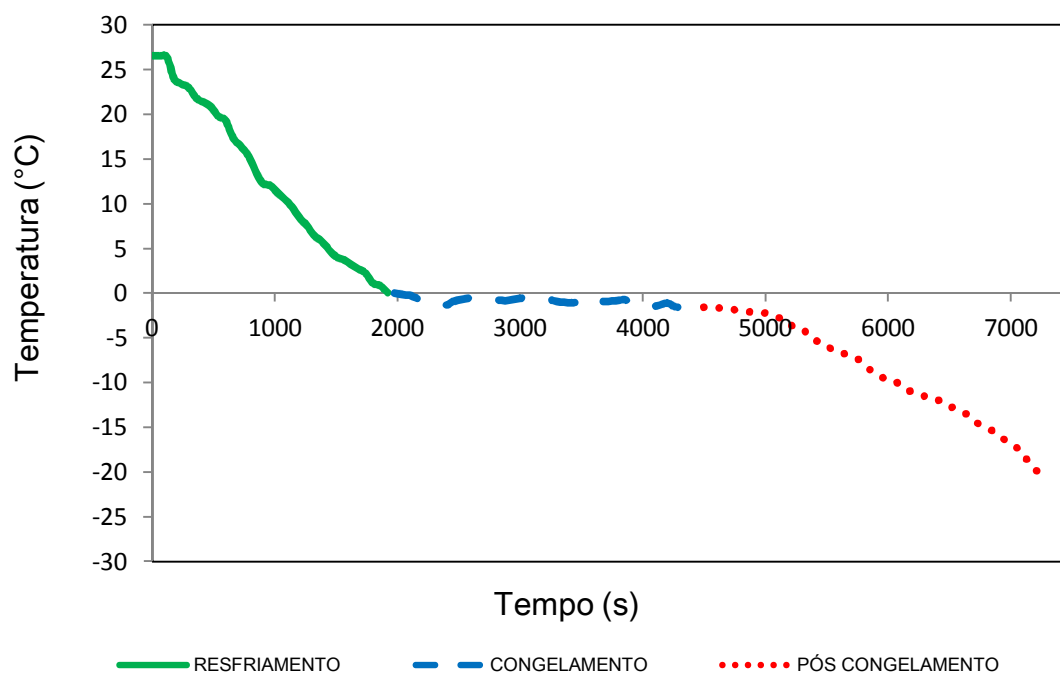
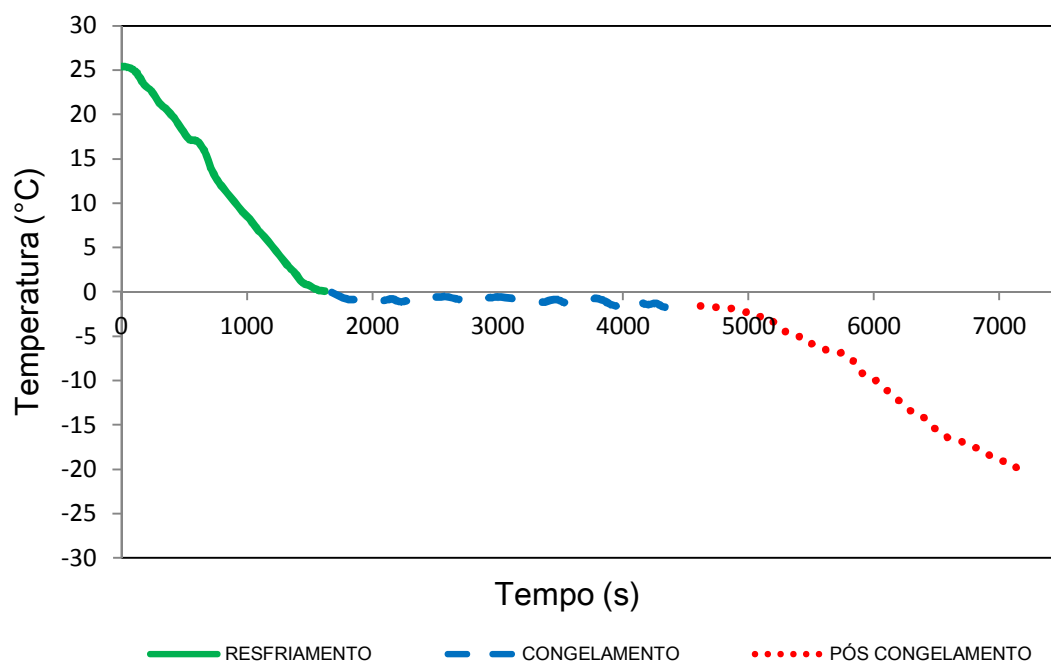


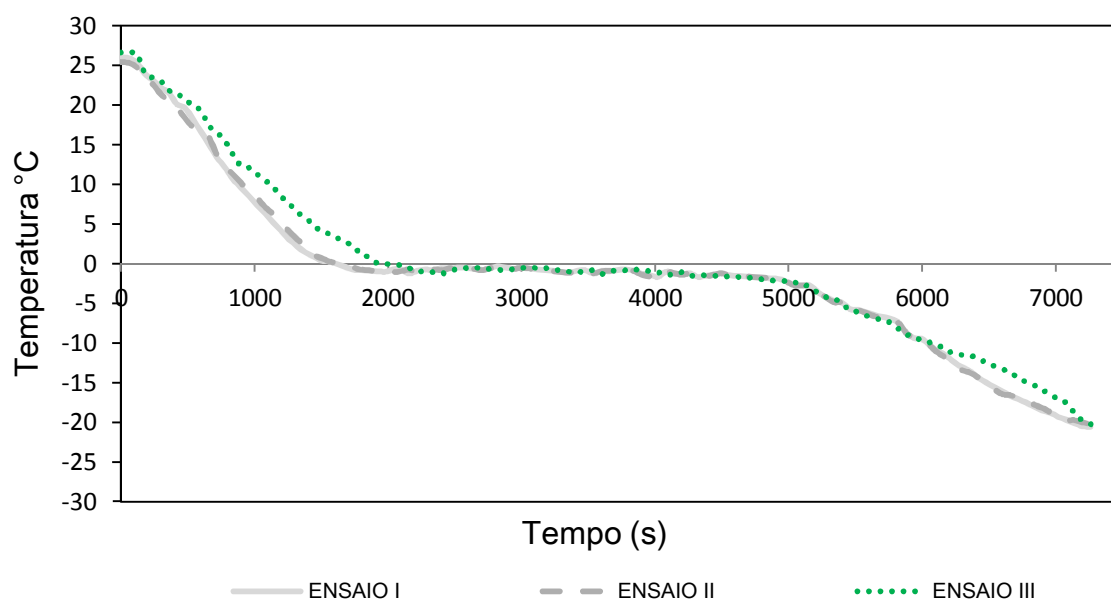
Figura 16 - Curva de congelamento da polpa de limão à temperatura de $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ (Ensaio III).



As curvas obtidas para os ensaios I, II e III foram similares à curva de congelamento da água pura, conforme apresentada por Zaritzki (2000), devido à alta porcentagem de umidade (92,63%) da polpa de limão Tahiti, antes do congelamento e a baixa taxa de congelamento ($-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Logo, foi possível verificar as três fases distintas da conversão da água contida no alimento em gelo, como: fase de resfriamento do produto, caracterizada por uma curva típica exponencial; fase de cristalização ou congelamento da água, representada por uma reta e a fase de pós congelamento, caracterizada por uma curva exponencial.

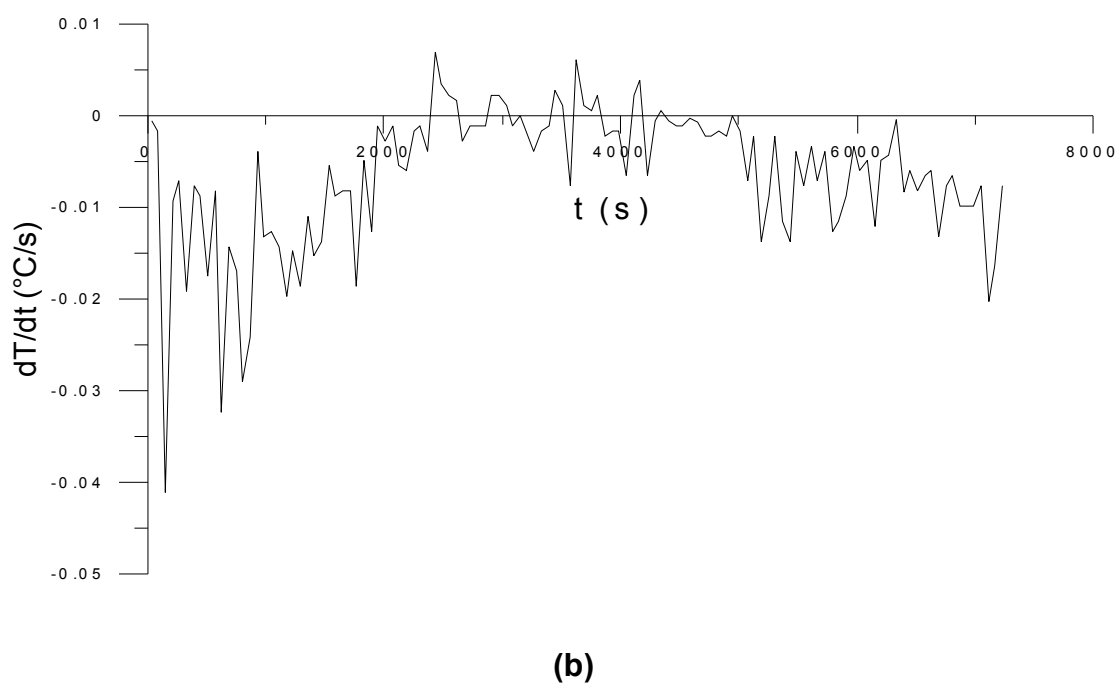
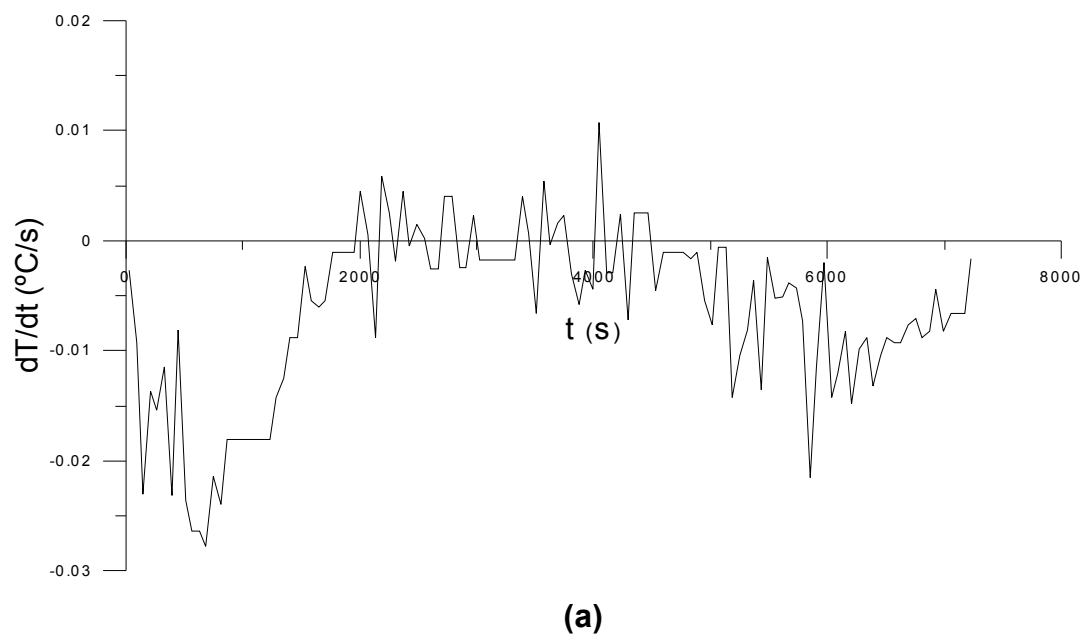
Na Figura 17 é mostrado o comportamento das três curvas de congelamento obtidas, onde se pode observar que as mesmas, apresentaram, praticamente, o mesmo comportamento durante o processo de congelamento a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

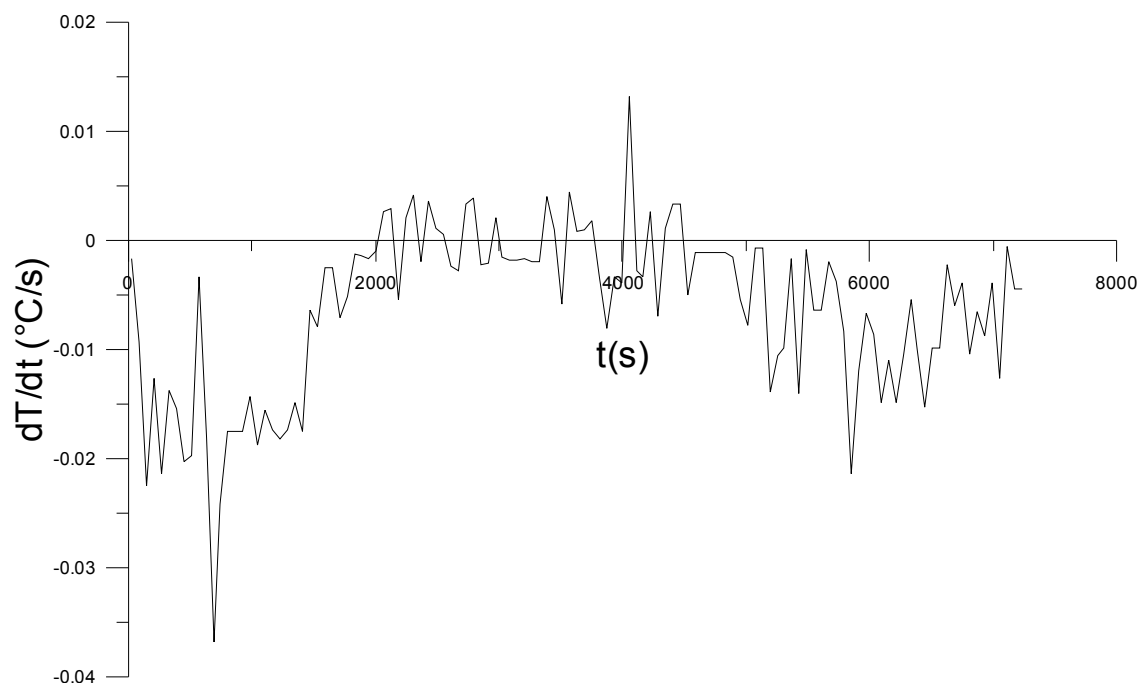
Figura 17 – Curvas dos ensaios de congelamento da polpa de limão.



A partir das curvas de congelamento, foram obtidos os gráficos das taxas de resfriamento, apresentadas nas Figuras 18a, 18b e 18c, para a determinação da temperatura de início de congelamento (T_{ic}) de cada ensaio.

Figura 18 – Taxa de resfriamento da polpa de limão Tahiti durante o congelamento a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$.





(c)

Os gráficos da taxa de resfriamento para cada ensaio evidenciaram que após o sub-resfriamento houve um aumento da temperatura em decorrência da formação dos primeiros cristais de gelo e liberação de calor latente. Neste intervalo, em que ocorreu o aumento da temperatura, determinou-se a temperatura de início de congelamento da polpa, para os três ensaios que corresponderam a: $T_{ic} = -1,024^{\circ}\text{C}$ (a), $T_{ic} = -1,045^{\circ}\text{C}$ (b) e $T_{ic} = -1,032^{\circ}\text{C}$ (c) para os tempos de 1999, 2280 e 2000 segundos, respectivamente. Verifica-se que a temperatura de início de congelamento foi praticamente constante entre os ensaios.

Fernandes et al. (2010) estudando o congelamento de polpa de morango com umidade de 94,35% em banho ultratermostático a -20°C , verificaram uma temperatura de início de congelamento de $-0,7^{\circ}\text{C}$. Soares et al. (2012) utilizando um ultrafreezer para o congelamento da polpa de mangaba com umidade de 72,39%, verificaram uma temperatura inicial de congelamento de aproximadamente -1°C . Já Pereira (2013) congelando polpa de acerola com 92,10% de umidade em câmara fria a -25°C , obteve uma temperatura de início de congelamento de $-1,1^{\circ}\text{C}$.

Segundo Ferreira et al. (2007), a temperatura de início de congelamento de polpas de frutas depende da composição química do produto, em especial, o teor de

sólidos solúveis. Quanto mais alto o teor de sólidos, mais baixo será o ponto inicial de congelamento.

Avaliando os resultados obtidos para a temperatura de início de congelamento da polpa de limão Tahiti, pode-se ressaltar que os valores experimentais determinados estão coerentes com os especificados na literatura.

Em relação à etapa de congelamento, que corresponde à fase onde ocorre o aumento dos cristais de gelo, liberação do calor latente e o aumento da concentração dos sólidos solúveis, esta se estendeu da região do ponto inicial de congelamento até a temperatura de congelamento que correspondeu a $T_{c(a)} = -1,510^{\circ}\text{C}$, $T_{c(b)} = -1,538^{\circ}\text{C}$ e $T_{c(c)} = -1,243^{\circ}\text{C}$ para os tempos de 4560, 4440 e 4500 segundos, respectivamente.

Araújo et al. (2000) no estudo do congelamento da polpa de acerola em um freezer com temperatura de $-22,6^{\circ}\text{C}$ verificou um período de 1.800 segundos para o resfriamento e 6.000 segundos para a cristalização e o pós-congelamento.

Segundo Kleeberg (1995) a região de -1 a -5°C é, normalmente, a zona de máxima formação de gelo ou da "parada térmica", assim chamada por corresponder, aproximadamente, a um patamar nas curvas temperatura versus tempo durante o congelamento.

O pós-congelamento foi caracterizado pela retirada do calor sensível abaixo do ponto de congelamento, resultando na diminuição da temperatura até que atingisse a temperatura próxima à de equilíbrio do freezer ($-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

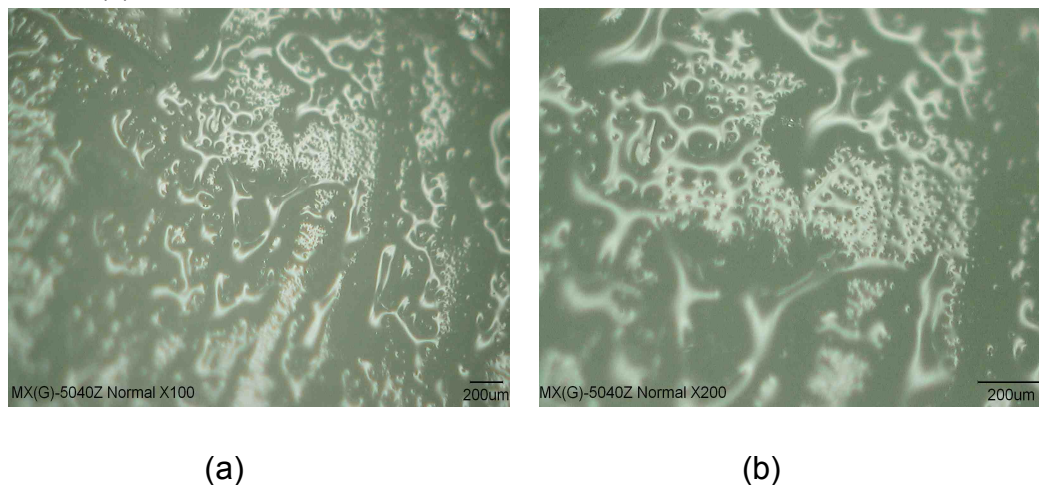
4.6 ANÁLISE MICROESTRUTURAL

As microestruturas dos cristais de gelo da água disponível da polpa de limão congelada a $-20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, podem ser observadas na Figura 19 com aumentos de 100 e 200x. Verifica-se que após o congelamento, os cristais de gelo apresentaram estruturas com ramificações semelhantes à de uma árvore, caracterizada como dendrítica, presente na grande maioria dos processos de solidificação.

As fotomicrografias mostram que os cristais de gelo configuraram uma rede de dendríticas que cresceram paralelamente e com espaços intercelulares presentes na

estrutura celular. Esses espaços possibilitam o aumento no teor de água intracelular, que é favorável à formação de grandes cristais de gelo.

Figura 19 – Fotomicrografias da polpa de limão congelada a $-20 \pm 2^\circ\text{C}$ (a) aumento de 100x (b) aumento de 200x.



Segundo Rocha et al. (2003), o espaçamento dendrítico é inversamente proporcional à velocidade de resfriamento, pois quanto maior for essa velocidade, mais refinada será a microestrutura.

Logo, pode-se ressaltar que a velocidade de congelamento é reconhecida como um dos fatores responsáveis pela manutenção das características microestruturais do produto congelado, já que os fenômenos de nucleação e crescimento de estruturas dendríticas ocorrem ao longo da evolução do processo.

Além da dinâmica do processo de congelamento, os aspectos como heterogeneidade da composição química e concentrações dos componentes envolvidos também estão relacionados à intensidade do crescimento do cristal. Desta forma, é de grande importância o entendimento do desenvolvimento dendrítico durante o congelamento lento de polpas de frutas, já que as características das dendríticas e o controle de segregação que se forma nos espaços intercelulares irão influenciar fortemente nas propriedades do produto final.

A morfologia de cristais de gelo durante o congelamento foi observada por outros autores: Martí e Aguilera (1991), para frutos de amora silvestre; Resende e Cal-Vidal (2002) frutos de melão; Gonçalves et al. (2010) frutos do pequi e Reno et al. (2011)

frutos do morango. Porém, evidencia-se a inexistência de trabalhos na literatura pesquisada, com polpas de frutas, que abordem a morfologia de crescimento dendrítico e conseqüentemente o arranjo microestrutural em condições de congelamento lento.

4.7 PROPRIEDADES TERMOFÍSICAS

4.7.1 Massa específica

Os resultados médios experimentais obtidos para a massa específica da polpa de limão antes e após o congelamento estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Valores médios da massa específica e desvio padrão da polpa de limão nas temperaturas de 25 e -20 °C.

Temperatura (°C)	Massa específica (g.cm⁻³)	Desvio padrão
25	1,017	0,02
-20	0,995	0,01

Considerando o valor da massa específica da polpa de limão na temperatura de 25°C, verifica-se que o resultado de 1,017 g.cm⁻³ foi semelhante ao valor obtido por Silva (2008) 1,017 g.cm⁻³ para a polpa de jenipapo com umidade de 94% e temperatura de 20°C. Resultados acima do obtido no presente trabalho foram reportados por Pereira et al. (2002) 1,02 g.cm⁻³ para a polpa de açaí com 84,73% de umidade e temperatura de 20°C, por Lima et al. (2003) 1,063 g.cm⁻³ para a polpa de umbu com 89,89% de umidade, temperatura de 20°C e concentração de 10 °Brix e por Dantas Júnior et al. (2007) 1,048 g.cm⁻³ para a polpa de manga com 86,94% de umidade e temperatura de 20°C.

Segundo os autores acima citados, a massa específica varia em função da temperatura e da quantidade de sólidos solúveis totais. Sendo que o teor de água exerce maior influência na massa específica que a temperatura (TELIS-ROMERO et al., 1998). Esta afirmação justifica o resultado encontrado neste trabalho, uma vez que a

polpa de limão apresentou um teor de umidade elevada (92,63%) e temperatura de análise acima das referenciadas.

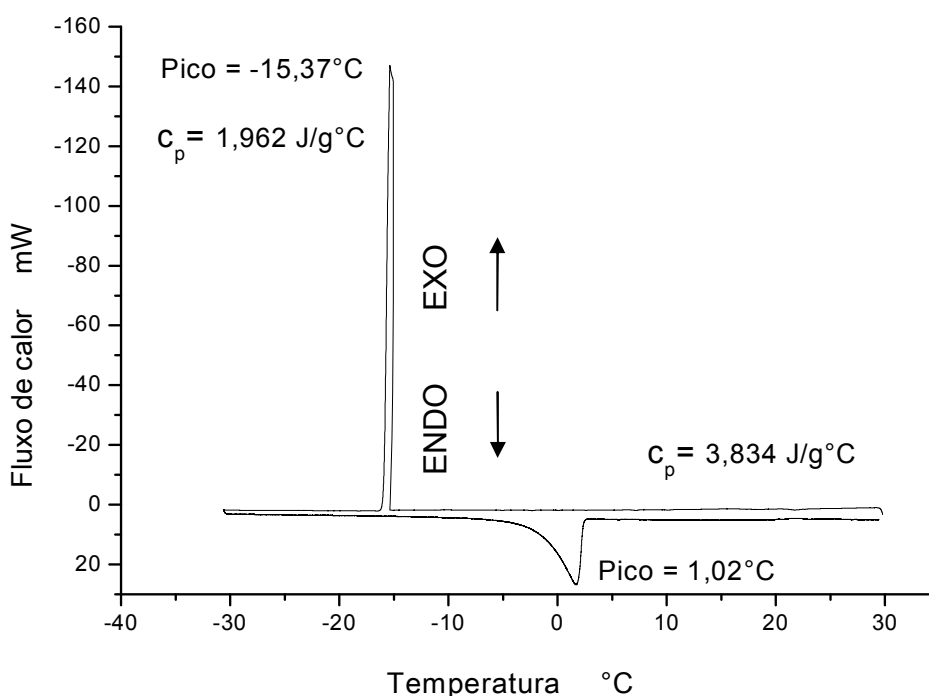
Para a polpa congelada houve uma diminuição de 2,16% da massa específica, em relação à polpa não-congelada. Esta redução está relacionada com a mudança de fase da água contida na polpa, que na forma de gelo tem menor massa específica.

Na literatura são poucos os trabalhos que reportam a massa específica de polpa de frutas em temperatura abaixo do ponto de congelamento. Mata et al. (2005) utilizando a mesma metodologia aplicada no presente trabalho, obtiveram resultados de $0,920 \text{ g.cm}^{-3}$ para a polpa de cajá congelada a -18°C e com teor de sólidos solúveis de 9°Brix , e por Pereira (2013) $0,950 \text{ g.cm}^{-3}$ para polpa de acerola com $7,5\%$ Brix e congelada a -25°C .

4.7.2 Calor específico

As curvas calorimétricas DSC para os ciclos de resfriamento e aquecimento da polpa de limão Tahiti, com seus respectivos calor específicos estão apresentadas na Figura 20.

Figura 20 – Curvas DSC para os ciclos resfriamento e aquecimento da polpa de limão.



Foi evidenciada a formação de dois picos, sendo um exotérmico para o ciclo de resfriamento que ocorreu no intervalo de temperatura entre 30 e -30°C com razão de resfriamento de 1°C.min⁻¹ e um endotérmico para o ciclo de aquecimento entre -30 e 30°C com razão de aquecimento de 1°C.min⁻¹.

Os resultados mostraram um pico exotérmico em -15,37°C com calor específico de 1,962 J.g⁻¹°C⁻¹ (cristalização) e um pico endotérmico em 1,02°C com calor específico de 3,834 J.g⁻¹°C⁻¹, após a mudança de fase (fusão) da amostra na curva DSC. Pode-se notar que a diminuição da temperatura acarreta uma diminuição do calor específico, e isto pode estar relacionado ao fato de que as propriedades térmicas dos alimentos sofrem mudanças substanciais com a temperatura e com o seu estado termodinâmico.

Segundo Zueco et al. (2004), o calor específico é fortemente influenciado pela temperatura, principalmente na faixa em que ocorre a mudança de fase do estado sólido para o líquido, sendo esta influência evidenciada através de um pico prolongado. Além da temperatura, o calor específico também sofre influência da água contida na amostra, já que esta apresenta propriedades distintas quando se encontra no estado livre e quando está ligada a algum componente sólido (ARAÚJO et al., 2004; TANSAKUL e LUMYONG, 2008).

Considerando os resultados obtidos para o calor específico abaixo do ponto de congelamento, verifica-se que o mesmo foi inferior aos reportados por Simões (1997) que trabalhando com polpa de manga a -18°C encontrou valores entre 2,25 kJ.kg⁻¹°C⁻¹ e 2,49 kJ.kg⁻¹°C⁻¹, por Silva (1997) 2,85 kJ.kg⁻¹°C⁻¹ para a polpa de abacaxi com 15°Brix e por Mata et al. (2005) que estudando a polpa de cajá a -18°C e com teor de sólidos solúveis de 9°Brix obtiveram um resultado de 2,485 kJ.kg⁻¹°C⁻¹. Entretanto, está de acordo com o valor obtido por Alvarado e Romero (1989) 1,97 kJ.kg⁻¹°C⁻¹ para o suco de melancia congelado a -18°C e com 92,6% de água. Também próximo ao valor de 1,657 kJ.kg⁻¹°C⁻¹ encontrado por Pereira (2013) para a polpa de acerola na temperatura de -15°C e com sólidos solúveis de 7,5% Brix.

Com relação ao calor específico obtido para temperatura acima do ponto de congelamento, pode-se ressaltar que o mesmo está dentro da faixa de 3 a 4 kJ.kg⁻¹K⁻¹ apresentada por Choi e Okos (1986), para o calor específico de sucos de frutas. Resultados dentro da faixa mencionada foram reportados por Lima et al. (2003) para a

polpa de umbu que obtiveram resultados de calor específico variando de 3,2 a 3,7 $\text{kJ.kg}^{-1}\text{°C}^{-1}$, por Araújo et al. (2004) que analisaram a polpa de cupuaçu e obtiveram resultados médios experimentais variando entre 3,18 $\text{kJ.kg}^{-1}\text{°C}^{-1}$ e 3,71 $\text{kJ.kg}^{-1}\text{°C}^{-1}$, por Muniz et al. (2006) que obtiveram o valor médio de 3,61 $\text{kJ.kg}^{-1}\text{°C}^{-1}$ para a polpa de bacuri e por Silva (2008) 3,80 $\text{kJ.kg}^{-1}\text{°C}^{-1}$ para a polpa de jenipapo.

Verifica-se que o resultado do calor específico de 3,834 $\text{J.g}^{-1}\text{°C}^{-1}$) obtido para a polpa de limão na temperatura acima do congelamento apresentou um pouco acima dos referenciados pela literatura. Provavelmente, isto se deve ao alto conteúdo de umidade (92,63%) como também a maior disponibilidade da água livre, que faz com que o calor específico seja próximo ao da água de 4,186 $\text{kJ.kg}^{-1}\text{°C}^{-1}$ na temperatura de 25°C e pressão constante.

4.8 ANÁLISE SENSORIAL

As amostras de suco de limão Tahiti preparadas com as polpas armazenadas por 180 dias, adoçadas com 55g de sacarose para 100g de suco e diluídas na proporção de 1:5 (v : v) com água mineral foram classificadas relacionando o tempo de armazenamento e o tamanho amostral, conforme a Tabela 8. O tamanho amostral foi diferenciado para as amostras 4, 5 e 6, devido a não uniformidade na distribuição das fichas de avaliação. Porém, de acordo com os dados estatísticos essa diferença não influenciou na obtenção dos resultados.

Tabela 8 – Tempo de armazenamento e tamanho de cada amostra.

Amostra	Tempo de armazenamento (dias)	Tamanho amostral
1	180	50
2	150	50
3	120	50
4	90	49
5	60	52
6	30	52
7	1	50

Nas Tabelas 9, 10 e 11 estão apresentadas, respectivamente, a distribuição de frequências e porcentagens de opiniões dos provadores com relação ao sabor, aroma e aparência para cada item de aceitação.

Tabela 9 - Frequência e porcentagem das opiniões com relação ao sabor da polpa armazenada por um período de 1 a 180 dias.

Itens	Frequência	Proporção	Porcentagem
1	3	0,008	0,8
2	5	0,014	1,4
3	13	0,037	3,7
4	16	0,045	4,5
5	10	0,028	2,8
6	40	0,113	11,3
7	86	0,244	24,4
8	109	0,309	30,9
9	71	0,202	20,2
Total	353	1	100

* Itens de aceitação na escala hedônica (1= desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei/nem desgostei; 6 = gostei ligeiramente; 7 = gostei moderadamente; 8 = gostei muito; 9 = gostei muitíssimo).

Considerando os resultados obtidos para a frequência e porcentagens de opiniões, verifica-se que em relação ao sabor dos 353 provadores, 109 (30,9%) gostaram muito, enquanto que 3 (0,8%) desgostaram muitíssimo. Observa-se também que independente da intensidade que eles gostaram 306 (86,8%) afirmaram gostar (itens 6, 7, 8 e 9 na escala hedônica), 37 (10,4%) disseram desgostar (itens 1, 2, 3, e 4 na escala hedônica) e 10 (2,8%) nem gostaram nem desgostaram (item 5 na escala hedônica).

Com relação ao aroma (Tabela 10), observa-se que dentre os 353 provadores 108 gostaram muito e 4 desgostaram muitíssimo, que em termos percentuais correspondem a aproximadamente 30% e 1%, respectivamente.

Tabela 10 - Frequência e porcentagem das opiniões com relação ao aroma.

Itens*	Frequência	Proporção	Porcentagem
1	4	0,011	1,1
2	7	0,020	2,0
3	4	0,011	1,1
4	15	0,042	4,2
5	42	0,119	11,9
6	75	0,212	21,2
7	65	0,184	18,4
8	108	0,306	30,6
9	33	0,095	9,5
Total	353	1	100

* Itens de aceitação na escala hedônica (1= desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei/nem desgostei; 6 = gostei ligeiramente; 7 = gostei moderadamente; 8 = gostei muito; 9 = gostei muitíssimo).

Para a aparência (Tabela 11), constatou-se que aproximadamente 30% de todos os provadores gostaram muito, 4,5% desgostaram ligeiramente e 8,8% disseram que nem gostaram nem desgostaram da aparência. Considerando os itens 6, 7, 8 e 9 e somando as porcentagens de cada um desses itens, pode-se ressaltar que a aparência das amostras de suco foi aprovada por aproximadamente 84,2% dos provadores.

Tabela 11 – Frequência e porcentagem das opiniões com relação à aparência.

Itens	Frequência	Proporção	Porcentagem
1	3	0,008	0,800
2	4	0,011	1,100
3	2	0,006	0,600
4	16	0,045	4,500
5	31	0,088	8,800
6	47	0,133	13,300
7	78	0,221	22,100
8	108	0,306	30,600
9	64	0,182	18,200
Total	353	1	100

Nas Tabelas 12, 13 e 14 estão apresentados os resultados das proporções de cada item, simultaneamente, com o tempo de armazenamento para os atributos sabor, aroma e aparência das amostras de suco de limão. Os itens que apresentavam as maiores proporções foram correlacionados em percentuais para expressar as opiniões dos provadores.

Tabela 12 – Proporções de aceitação do sabor de cada item simultaneamente com o tempo de armazenamento.

Itens*	Amostras						
	1 (180 dias)	2 (150 dias)	3 (120 dias)	4 (90 dias)	5 (60 dias)	6 (30 dias)	7 (1 dia)
1	0,020	0,000	0,020	0,020	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,060	0,000	0,020	0,000	0,000	0,020
3	0,040	0,060	0,000	0,041	0,000	0,000	0,120
4	0,040	0,100	0,040	0,082	0,000	0,000	0,060
5	0,060	0,000	0,000	0,061	0,038	0,000	0,040
6	0,120	0,160	0,140	0,061	0,115	0,096	0,100
7	0,280	0,200	0,220	0,245	0,308	0,096	0,360
8	0,360	0,260	0,400	0,163	0,346	0,442	0,180
9	0,080	0,160	0,180	0,306	0,192	0,365	0,120
Total	1	1	1	1	1	1	1

* Itens de aceitação na escala hedônica (1= desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei/nem desgostei; 6 = gostei ligeiramente; 7 = gostei moderadamente; 8 = gostei muito; 9 = gostei muitíssimo).

De acordo com os resultados obtidos para o atributo sabor, verifica-se que na amostra 1 (180 dias) a opção gostei muito foi escolhida por 36% dos provadores. Para a amostra 2 (150 dias) 26% disseram que gostaram muito. Na amostra 3 (120 dias) a opção gostei muito foi de 40%. No caso da amostra 4 (90 dias) a opção que apresentou a maior frequência foi a gostei muitíssimo, com a porcentagem de 30,6%. Para as amostras 5 (60 dias) e 6 (30 dias), as opções de 1 a 4 não foram escolhidas por nenhum dos provadores, e em ambas as opções com maior frequência é a gostei muito, porém para a amostra 5 a segunda opção mais escolhida foi a gostei moderadamente,

enquanto que para a amostra 6, a segunda opção mais escolhida foi gostei muitíssimo. Já para a amostra 7 (1 dia) 36% dos provadores disseram que gostaram moderadamente.

Considerando as proporções de aceitação do aroma, apresentado na Tabela 13, pode-se verificar que para a amostra 1 (180 dias), as opções gostei ligeiramente e gostei muito foram as mais escolhidas pelos provadores com 28% cada. Em se tratando das amostras 2 (150 dias), 3 (120 dias), 4 (90 dias), 5 (60 dias) e 6 (30 dias) a opção gostei muito obteve a maior frequência de escolhas, com 22%, 36%, 30,6%, 38,4% e 46,1%, respectivamente. Para a amostra 7 (1 dia), a opção gostei ligeiramente obteve 40% das escolhas.

Tabela 13 – Proporções de aceitação do aroma de cada item simultaneamente com o tempo de armazenamento.

Itens*	Amostras						
	1 (180 dias)	2 (150 dias)	3 (120 dias)	4 (90 dias)	5 (60 dias)	6 (30 dias)	7 (1 dia)
1	0,020	0,040	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,020	0,020	0,020	0,041	0,000	0,000	0,040
3	0,040	0,020	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,060	0,040	0,040	0,082	0,019	0,000	0,060
5	0,120	0,200	0,100	0,163	0,096	0,038	0,120
6	0,280	0,200	0,160	0,143	0,173	0,134	0,400
7	0,120	0,180	0,200	0,204	0,250	0,211	0,120
8	0,280	0,220	0,360	0,306	0,384	0,461	0,120
9	0,060	0,080	0,080	0,061	0,077	0,154	0,140
Total	1	1	1	1	1	1	1

* Itens de aceitação na escala hedônica (1= desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei/nem desgostei; 6 = gostei ligeiramente; 7 = gostei moderadamente; 8 = gostei muito; 9 = gostei muitíssimo).

Com relação à aparência, apresentada na Tabela 14 as amostras 1, 4, 5 e 6, apresentaram as porcentagens de 28%, 22,4%, 48,2% e 44,2%, respectivamente, para a opção gostei muito, onde estes valores representam as maiores porcentagens obtidas

em cada uma dessas amostras. Para as amostras 2 e 7, a opção gostei moderadamente, registraram as porcentagens de 28% e 24%, respectivamente, sendo estas as maiores porcentagens em ambas as amostras. Já na amostra 3, foi registrado o percentual de 28% para a opção gostei muitíssimo.

Tabela 14 – Proporções de aceitação da aparência de cada item simultaneamente com o tempo de armazenamento.

Itens*	Amostra						
	1 (180 dias)	2 (150 dias)	3 (120 dias)	4 (90 dias)	5 (60 dias)	6 (30 dias)	7 (1 dia)
1	0,000	0,000	0,000	0,041	0,000	0,000	0,020
2	0,000	0,020	0,000	0,041	0,000	0,000	0,020
3	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019	0,000
4	0,020	0,080	0,040	0,081	0,019	0,038	0,040
5	0,060	0,120	0,080	0,182	0,096	0,096	0,080
6	0,160	0,120	0,160	0,163	0,96	0,038	0,200
7	0,220	0,280	0,200	0,184	0,211	0,211	0,240
8	0,280	0,260	0,240	0,224	0,482	0,442	0,200
9	0,240	0,120	0,280	0,184	0,096	0,154	0,200
Total	1	1	1	1	1	1	1

* Itens de aceitação na escala hedônica (1= desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei/nem desgostei; 6 = gostei ligeiramente; 7 = gostei moderadamente; 8 = gostei muito; 9 = gostei muitíssimo).

Desta forma, pode-se constatar que para os atributos sensoriais avaliados, a melhor aceitação ocorreu para as amostras de suco preparadas com as polpas com 30 e 60 dias de armazenamento, já que apresentaram as maiores proporções de aceitação.

Nas Figuras 21, 22 e 23 estão representadas as proporções de aceitação dos atributos sensoriais sabor, aroma e aparência, respectivamente. Para cada amostra de suco preparadas com as polpas armazenadas, as opiniões foram agrupadas em categorias, onde os itens 1, 2 e 3 identificam a proporção de pessoas que realmente

não gostaram, os itens 4, 5 e 6 os que nem gostaram nem desgostaram ou gostaram/desgostaram ligeiramente e os itens 7, 8 e 9 os que de fato gostaram.

Figura 21 – Proporção de aceitação do sabor do suco de limão para cada tempo de armazenamento

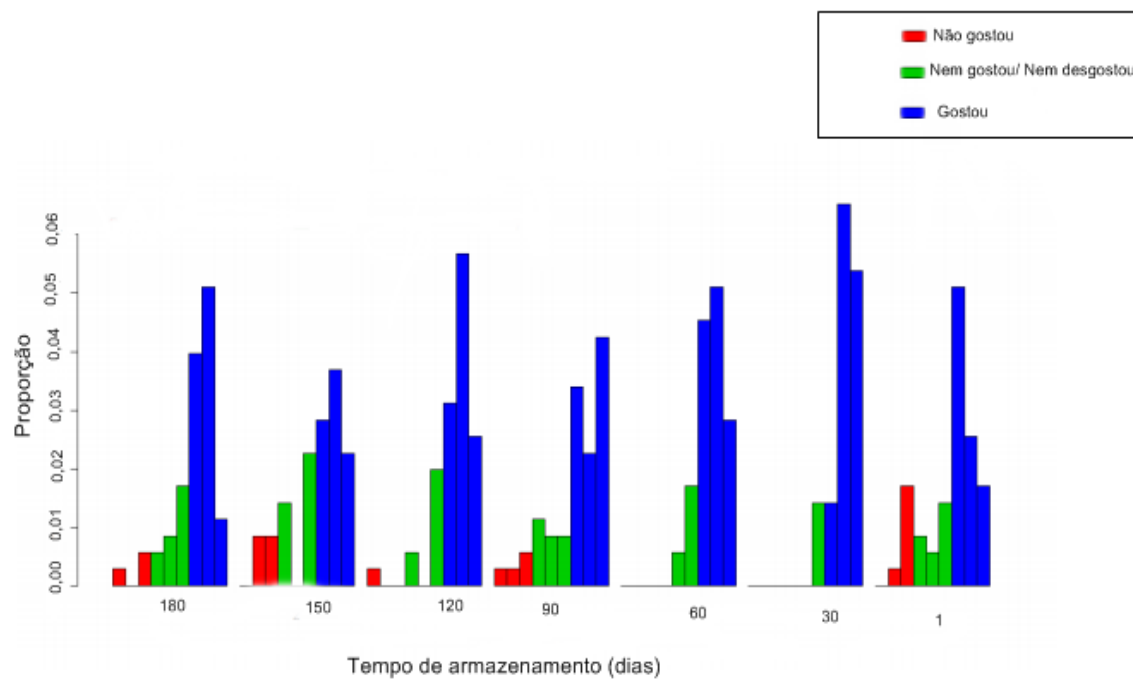


Figura 22 – Proporção de aceitação do aroma do suco de limão para cada tempo de armazenamento

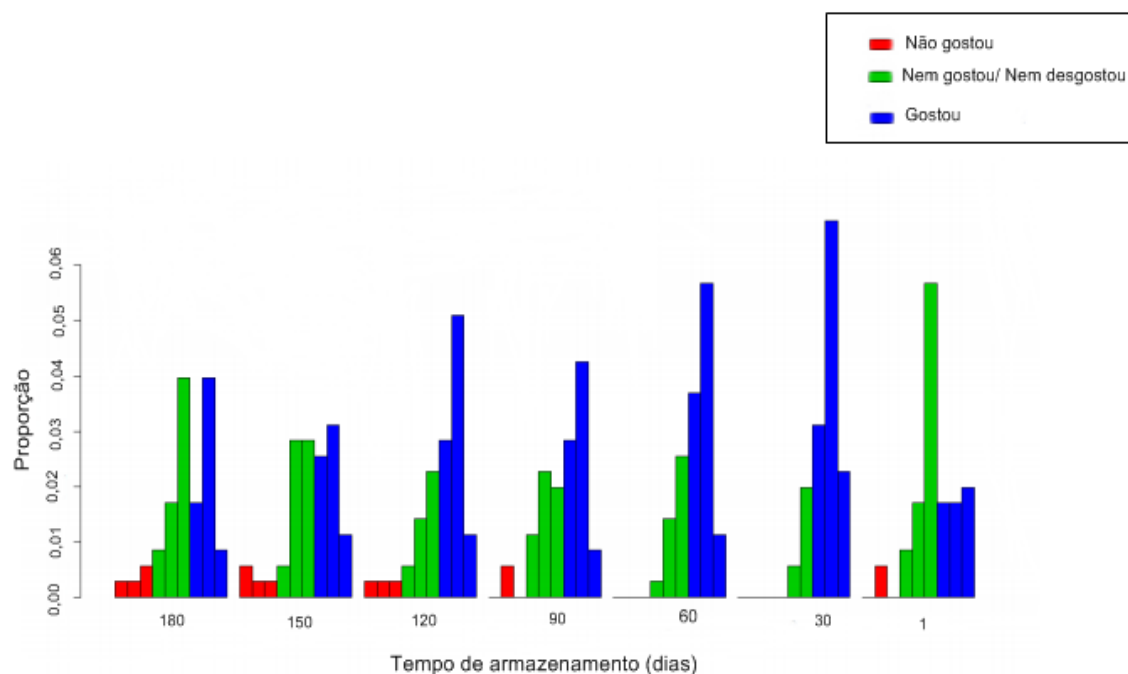
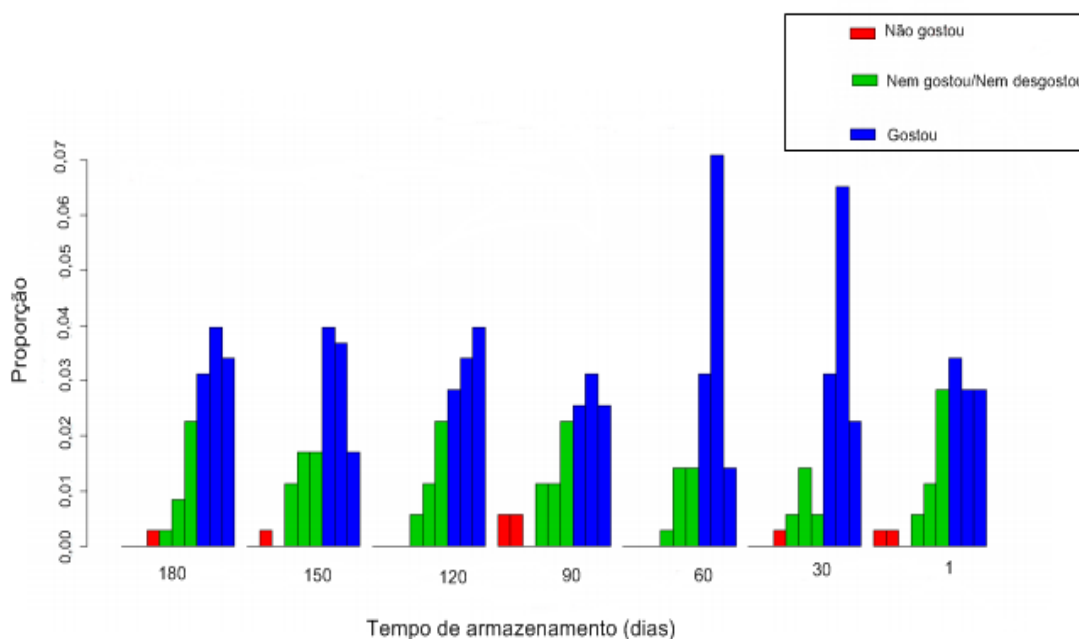


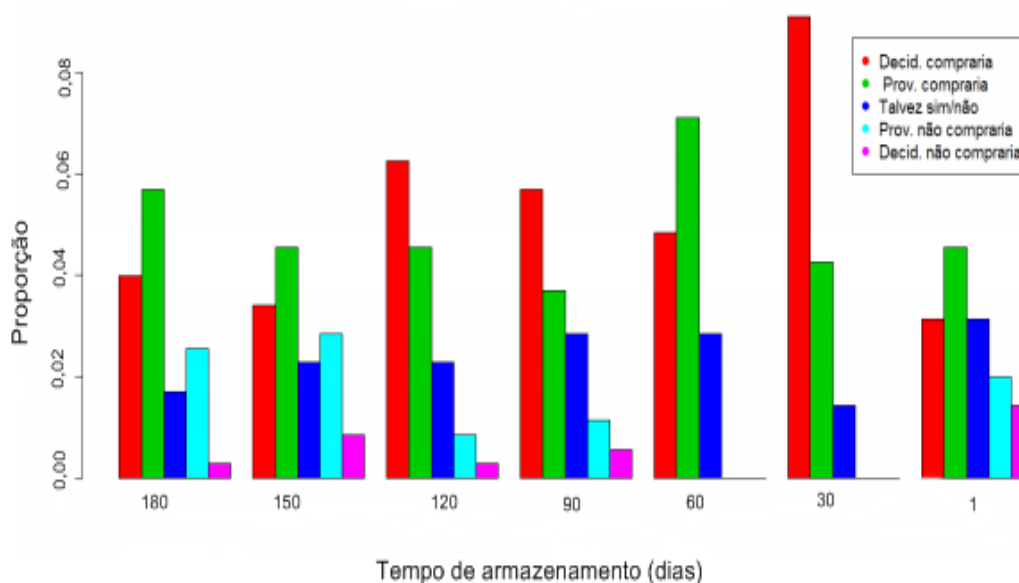
Figura 23 – Proporção de aceitação da aparência do suco de limão para cada tempo de armazenamento.



Através dos gráficos obtidos, pode-se verificar que em todas as amostras a proporção de pessoas que afirmaram gostar do sabor, aroma e aparência do suco de limão preparado com as polpas, são maiores que a proporção dos que responderam o contrário ou nenhum dos dois.

Para a intenção de compra, Figura 24, são mostradas as proporções dos provadores que após provar as amostras de suco informaram que: decididamente ou provavelmente compraria, talvez sim/talvez não e provavelmente ou decididamente não compraria a polpa congelada de limão Tahiti.

Figura 24 – Intenção de compra da polpa de limão.



De acordo com o gráfico da intenção de compra, é possível afirmar que para as amostras com 180, 150, 60 e 1 dia de armazenamento a maior proporção dos provadores assinalou que provavelmente comprariam, enquanto que para as amostras com 120, 90 e 30 dias foi afirmado que decididamente comprariam a polpa, sendo a amostra com 30 dias de armazenamento, a que apresentou a maior proporção, que decididamente comprariam. Pode-se observar também que para a amostra de suco com 1 dia de armazenamento foi a que apresentou a maior proporção de que decididamente não compraria, este fato pode ser atribuído a menor concentração de açúcares redutores e maior acidez apresentada pela polpa.

4.9 APROVEITAMENTO DO RESÍDUO

4.9.1 Caracterização físico-química do albedo seco do limão Tahiti

Na Tabela 15 encontram-se os resultados da caracterização físico-química do albedo seco em base úmida do limão Tahiti. As análises foram realizadas em triplicata.

Tabela 15 – Caracterização físico-química do albedo seco do limão Tahiti.

Parâmetros	Teor (%)	Desvio padrão
Umidade (% b.u)	9,73	0,22
A_w	0,48	0,01
Proteína (%)	2,02	0,30
Cinzas (%)	3,17	0,01
pH	3,92	0,00
Açúcares redutores (%)	9,71	0,03
Pectina (%)	28,12	0,09

A umidade obtida de 9,73% está acima dos valores encontrados por Soares et al. (2012) 4,09% com albedo do limão Tahiti e de Santos et al. (2011) 7,18% para farinha do albedo da laranja. Porém, está abaixo do obtido por Silva et al. (2009) 10,26% para o albedo de laranja. O valor de umidade de 9,73% em base úmida foi estabelecido para seu armazenamento até realização do processo fermentativo, já que o valor estipulado segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é de no máximo 15% (massa/massa) de umidade para a conservação de farinhas.

A atividade de água (A_w) 0,483 está dentro da faixa estabelecida para alimentos secos e estáveis do ponto de vista microbiológico, já que apresentou A_w inferior a 0,6 Gava et al. (2007). E próxima dos valores obtidos por Borges (2011) de 0,45 (bagaço desidratado de acerola e umidade de 8,53%), 0,46 (bagaço desidratado de pitanga com umidade de 8,30%) e 0,46 (bagaço desidratado de jambolão com umidade de 8,53%).

Com relação ao teor obtido de 2,02% para a proteína, pode-se dizer que o mesmo apresentou baixo percentual, quando comparado com os resultados de Mendonça et al. (2006) de 3,67% para o mesmo produto e com Santos et al. (2011) 3,72% para o albedo da laranja. Provavelmente, essa diferença é devido às condições de cultivo, como solo e adubações (nitrogenadas principalmente), as quais podem alterar os teores de proteínas nos frutos.

O teor de cinzas de 3,17% foi próximo ao de Santos et al. (2011) 3,88% para o albedo da laranja e superior aos de Mendonça et al. (2006) 2,45% e Soares et al. (2012) 2,65% com o albedo do limão Tahiti. Aumento que também pode está relacionado às condições de cultivo. Contudo, pode-se inferir que o albedo seco do

limão Tahiti apresenta uma boa fonte de minerais.

O valor obtido para o pH de 3,92 foi superior ao de Soares et al. (2012) 1,05 para albedo do limão Tahiti e próximo ao de Souza et al. (2010) 3,57 para casca e albedo do maracujá. Panarotto et al. (2003), utilizando 80% de cascas secas de limão Taiti como indutor para a produção de poligalacturonases obtiveram um valor de pH 4,68. Em processos biológicos, este parâmetro é muito importante para o crescimento e desenvolvimento do micro-organismo.

O percentual de 9,71% para os açúcares redutores (AR) foi inferior ao reportado por Souza et al. (2010) 11,71 para a casca e o albedo do maracujá-amarelo e maior do que obtido por Santiago (2012) 8,81%.

Com relação à pectina, o valor encontrado de 28,12% foi superior aos de Mendonça et al. (2006) 22,85% e próximo ao de Gonçalves (2001) 27,5% quando trabalharam com o albedo do limão Tahiti e albedo seco de laranja valência, respectivamente. O alto teor de pectina encontrado no resíduo seco do limão Tahiti favorece a síntese de pectinase, dentre elas a poligalacturonase, uma vez que o *Aspergillus niger* metaboliza este carboidrato para a produção desta enzima.

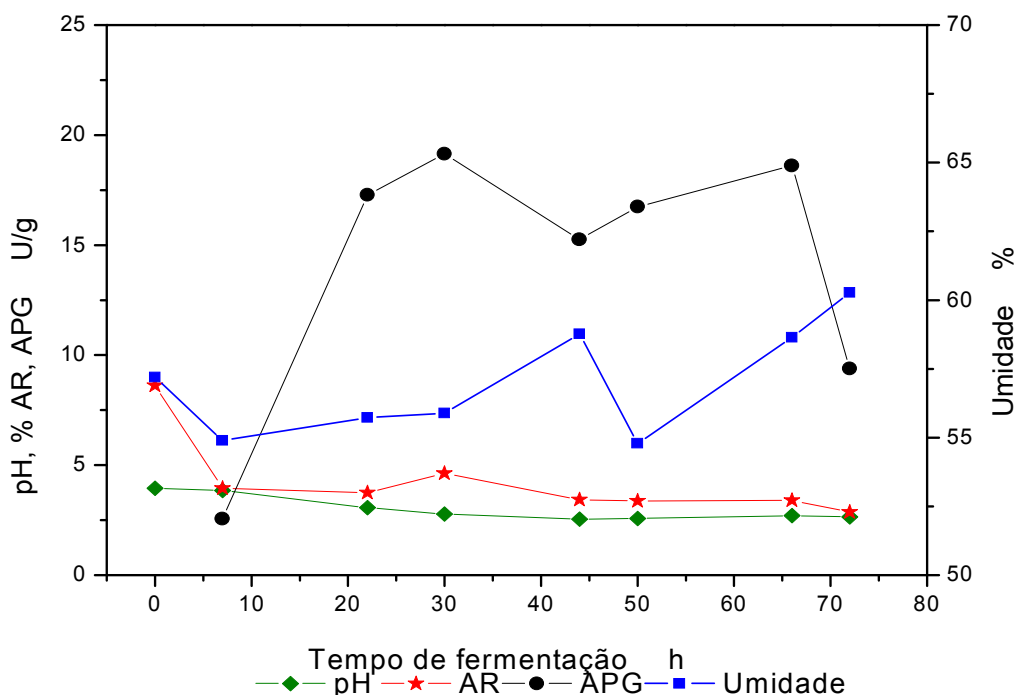
Segundo a literatura, quando a concentração de açúcar é baixa, há a quebra da molécula de pectina, de modo que possa ser consumida, resultando em alta atividade pectinolíticas (FAWOLE e ODUNFA, 2003).

A pectina é uma fonte indutora eficiente na produção destas enzimas, assim como também, pode atuar como fonte de carbono para os micro-organismos, dependendo da quantidade de açúcares presentes no meio de cultivo, portanto este resíduo poderá ser utilizado na síntese das pectinases (FONTANA et al., 2005).

4.9.2 Acompanhamento cinético da poligalacturonase

A Figura 25 mostra os resultados obtidos do acompanhamento cinético da produção da exo-PG e do consumo de açúcares, assim como, o monitoramento do pH e da umidade durante o período de 72 horas de fermentação.

Figura 25 - Acompanhamento cinético do processo fermentativo da produção da exo-PG utilizando como matéria-prima o albedo seco do limão Tahiti.



Observa-se que a maior atividade poligalacturonásica foi obtida às 30 horas de processo alcançando o pico de PG (19,14 U/g). Entretanto, Panarotto et al. (2003) encontraram a máxima atividade PG de 84,2U/g em 72 horas utilizando 80% da casca desidratada do limão Tahiti e 20% de farelo de trigo. Souza et al. (2010) utilizando casca e albedo seco de maracujá, na produção de poligalacturonase por fermentação em estado sólido e como agente da fermentação o *A. niger* CCT 0916, obtiveram a máxima atividade de 20,9 U/g em 66h de processo. Menezes et al. (2006) utilizando como substratos resíduo de maracujá (casca, albedo e sementes) e farelo de trigo, obtiveram uma atividade de 9,96U/g após 48h de fermentação. Camargo et al. (2005) utilizando o bagaço de laranja, obtiveram uma atividade de 3,6 U/g após 48h do processo. Santiago et al. (2012) utilizando casca de umbu obteve a atividade poligalacturonásica de 18 U/g em 44 horas de fermentação, com umidade do meio de 60% (b.u) e concentração de sulfato de amônio de 1,5%. É importante ressaltar, que os diferentes valores de atividade está relacionado com um conjunto de fatores que influenciam os cultivos em estado sólido, dentre eles o substrato, pH, quantidade de inóculo e da espécie microbiana utilizada.

Com relação aos açúcares redutores (AR) percebe-se que ocorreu um acúmulo nas primeiras 30 horas de atividade de processo, possivelmente, em detrimento da hidrólise da pectina em mono e oligossacarídeos. Segundo Fennema (2010), a pectina em meio muito ácido, as ligações glicosídicas (1,4) são hidrolisadas originando moléculas de açúcares de baixa massa molar mais facilmente assimilável pelos micro-organismos, os quais durante o processo foram sendo utilizados para o seu crescimento e metabolismo.

O pH vai diminuindo até 30 horas e a partir deste período permanece praticamente constante, o que pode está associado a produção de ácidos orgânicos pelos micro-organismos no início da fermentação.

A umidade variou de 60,27 a 57,19 % durante o processo. A perda da umidade pode estar relacionada à evaporação da água decorrente das atividades metabólicas do microrganismo durante o processo fermentativo.

Os resultados obtidos mostraram que o albedo seco do limão Tahiti é uma alternativa viável para ser utilizado como matéria-prima na fermentação no estado sólido para a produção de pectinases (exo-poligalacturonase).

5. CONCLUSÕES

Com base nos objetivos propostos e considerando os resultados obtidos neste trabalho, tem-se para as condições estudadas as seguintes conclusões:

► **Rendimento da polpa e do resíduo**

- O limão Tahiti apresentou um rendimento de 50,16% de polpa e 49,83% de resíduo, sendo a maior porção deste resíduo 20,51%, atribuída ao albedo.

► **Cinética de congelamento**

- As curvas de congelamento da polpa de limão a -20 ± 2 °C apresentaram temperaturas de início de congelamento de $-1,024^{\circ}\text{C}$, $-1,045^{\circ}\text{C}$ e $-1,032^{\circ}\text{C}$ para os tempos de 1999, 2280 e 2000 segundos, respectivamente. Sendo evidente a influência da composição química, em especial, o teor de sólidos solúveis, para a determinação da temperatura de início de congelamento.

► **Parâmetros físico-químicos durante o armazenamento**

- Decorridos 180 dias de armazenamento, as polpas apresentaram reduções da acidez titulável (16,82%), sólidos solúveis (10,97%) e vitamina C (26,08%). O açúcar redutor aumentou até 90 dias, diminuindo no decorrer do armazenamento. Para o HMF e o furfural só houve aumento a partir de 90 dias.

► **Microestruturas dos cristais de gelo**

- A microestrutura da polpa congelada de limão evidenciou a formação de grandes cristais de gelo nos espaços intercelulares, decorrente da baixa taxa de congelamento e concentração dos componentes envolvidos.

► Propriedades termofísicas

- As propriedades termofísicas massa específica e o calor específico apresentaram mudanças substanciais com a temperatura e com o estado termodinâmico, sendo registrada diminuição de 1,017 para 0,995 g. cm⁻³ para massa específica e de 3,834 para 1,962 J.g.°C⁻¹ para o calor específico.

► Análise sensorial

- A polpa de limão Tahiti armazenada por 180 dias apresentou boa aceitabilidade para os atributos sensoriais sabor, aroma e aparência, sendo a maior aceitação registrada para as amostras de sucos preparados com as polpas armazenadas por 30 e 60 dias, tendo em vista os resultados das análises de HMF e furfural quantificados a partir de 90 dias, os quais são responsáveis pelas alterações desses atributos.

- Com relação a de intenção de compra do produto pelos provadores, a amostra com 30 dias de armazenamento foi a que apresentou a maior proporção.

► Aproveitamento do resíduo

- A caracterização físico-química do albedo seco do limão Tahiti demonstrou que este é um substrato com potencial para ser utilizado em processos fermentativos para produção de enzimas pectinases por apresentar um percentual de pectina (28,1%), bastante satisfatório, haja vista que, essa substância é um excelente indutor dessas enzimas.

- As condições de cultivo que favoreceram a maior produção da poligalacturonase por *Aspergillus niger* CCT 0916 foram: umidade do meio fermentado de 60%, temperatura de incubação de 30°C e inóculo inicial de 10⁷ esporos/g com produção máxima de 19,14 U/g em 30 horas de fermentação.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar estudos envolvendo outras temperaturas e técnicas de congelamento da polpa de limão Tahiti, para verificar possíveis correlações na estabilidade física, química, sensorial e microestrutural.
- Propor uma modelagem matemática para prever a cinética de resfriamento, congelamento e pós-congelamento da polpa congelada de limão Tahiti.
- Determinar outras propriedades termofísicas da polpa de limão Tahiti, tais como: condutividade térmica e difusividade térmica.
- Fazer o estudo do aproveitamento das outras frações do resíduo (flavedo e membrana) para obtenção de outros produtos ou como substrato energético.
- Estudar outros tipos de embalagens que promovam a diminuição da perda da vitamina C ao longo armazenamento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **As Boas Práticas de Fabricação**, ANVISA. 2007. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 15 de maio de 2010.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; ABREU, L. N.; ROSSETTI, A. G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenóides. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n.1, p.56-58, 2003.

AGUILEIRA, J. M.; STANLEY, D. W. **Microstructural Principles of Food & Engineering**. 1. ed. Cambridge: Elsevier Applied Science, 1990. 343p.

AGUILEIRA, J. M. Why food microstructure? **Journal of Food Engineering**, v.67, n.1-2, p.3-11. 2005.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 14. ed. Arlington, VA, USA, 1992.

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 16. ed. Washington: Horwitz W., 1997.

ALBUQUERQUE LIMA, E. D. P. de.; ALBUQUERQUE LIMA, C. A. de.; ALDRIGUE, M. L.; GONDIM, P. J. S. Caracterização física e química dos frutos da umbu cajazeira. (*Spondias spp*) em cinco estádios de maturação, da polpa congelada e néctar. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal – SP, v. 24, n. 2, p. 338-343, agosto 2002.

ALVARADO, J.D.; ROMERO, C.H. Physical properties of fruits - 1-11: Density and viscosity of juices as functions of soluble solids and content and temperature. **Latin American Applied Research**, Bahía Blanca, v.19, n.24, p.15-21, 1989.

ALVES, C. C. O. de.; RESENDE, J. V. de; CRUVINEL, R. S. R.; PRADO, M. E. T. Estabilidade da microestrutura e do teor de carotenoides de pós obtidos da polpa de pequi (Caryocar brasiliense Camb.) liofilizada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.28, n.4, p. 830-839, out.-dez. 2008.

ARAGÃO, R. F. **Secagem de fatias de caju (Anacardium occidentale L.) em secador de bandejas**. Campina Grande, 2007. 126p. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande-PB, 2007.

ARAÚJO, M. S. O.; BRAGA, M. E. D.; MATTA, M. E. R. M. Cinética de congelamento de polpa de acerola a baixas temperaturas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.2, n.1, p.27-34, 2000.

ARAÚJO, J. L., QUEIROZ, A. J. M., FIGUEIREDO, R. M. F. Propriedades termofísicas da polpa do cupuaçu com diferentes teores de sólidos. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v.28, n.1, p. 126-134, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE CÍTRICOS – ABECITRUS, 2008. **História da Laranja e Subprodutos da Laranja**. Disponível em: <<http://www.abecitrus.com.br/historia.html>> Acesso em: 20 de outubro 2010.

AZOUBEL, P.M.; Cipriani, D. C.; El-Aouar, A. A.; Antonio, G. C.; Murr, F. E. X. Effect of concentration on the physical properties of the cashew juice. **Journal of Food Process Engineering**, v. 66, p. 413-417, 2005.

BADENES, M. L.; CALVO, J.M., LLACER, G. Estudio comparativo de la calidad de los frutos de 26 cultivares de melocotonero de origem norte americano y dos variedades población de origem espanõl. **Investigação agrária: Produccion e proteccion vegetal**, Madri, v. 13, n. 1-2, p. 57-70. 1998.

BARBIN, D. F.; NEVES FILHO, L. C.; SILVEIRA JUNIOR, V. Processo de congelamento em túnel portátil com convecção forçada por exaustão e insuflação para paletes. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v.29, n.3, p. 667-675, jul.-set. 2009.

BARBOZA JÚNIOR, C. R. A. **Evapotranspiração da lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tan.) determinada por lisimetria de pesagem**. 2007. 63p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba – SP, 2007.

BARBIN, D. F.; DAVILA, M. S. L.; SILVEIRA JUNIOR, V. Avaliação da estabilidade de soluções modelo (CMC-sacarose) em recongelamentos. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 28, n. 1, p. 125-132, jan./jun. 2010.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998, 317 p.

BECKER, B. R.; FRICKE, B. A. Freezing times of regularly shaped food items. **International Journal of Heat and Mass Transfer**. Oxford, v.26, n.5, p. 617-626, sept. 1999.

BELCHIOR, N. C. **Transferência de calor no congelamento de polpa de maracujá**. 2012. 126p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais – MG.

BENDER, R. J.; FLORES CANTILLANO, R. F. **Produção orgânica de citros no Rio Grande do Sul. Embrapa Clima Temperado**. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/catalogo/tipo/sistemas/sistema20_novo/cap12_pos_colheita.htm>. Acesso em: 02 mar. 2013.

BENEVIDES, S. D.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; CASTRO, V. C. Qualidade da manga e polpa da manga Ubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.28, n.13, p. 571-578, jul.-set. 2008.

BEZERRA, V. S. Pós-colheita de Frutos / Valéria Saldanha Bezerra. -Macapá: Embrapa Amapá. Documentos, 51. 26p. Macapá, 2003.

BLANDINO, A.; DRAVILLAS, K.; CANTERO, D.; PANDIELLA, S. S.; WEBB, C. Utilisation of whole wheat flour for the production of extracellular pectinases by some fungal strains. **Process Biochemical**, v. 37, n. 5, p. 497- 503, 2001.

BLUM, J.; AYUB, R. A. Conservação pós-colheita da lima ácida “Tahiti” tratada com 1-metilciclopropeno. **Revista Biotemas**, v. 21, n. 2, p. 27-31, junho de 2008.

BON, J.; VÁLQUIRO, H.; BENEDITO, J.; TELIS-ROMERO, J. Thermophysical properties of mango pulp (mangifera indica l. cv. Tommy atkins). **Journal of Food Engineering**. v. 97, n. 4, p. 563-568, 2010.

BONOMO, R. C. F.; FONTAN, R. C. da.; SOUZA, T. S. de.; VELOSO, C. M.; REIS, M. F. T.; CASTRO, S. S. Propriedades termofísicas do suco de caju em diferentes concentrações e temperaturas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.11, n.1, p.35-42, 2009.

BORGES, K. C. **Estudo das características físico-químicas e funcionalidade de bagaços de frutas tropicais desidratadas em leite de jorro**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria n. 78, 17 mar. 1998. Aprova os Padrões de Identidade e Qualidade para polpas de frutas de açaí, de

acerola, de graviola, de cupuaçu e de cacau. **Diário Oficial**, Brasília, 18 mar. 1998. Seção 1, p. 39-40.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 1, de 7 de Janeiro de 2000. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de frutas. **Diário Oficial da União**, nº 6, Brasília, 10 de janeiro de 2000.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília; Editora MS. 2005. 1017p.

BRAZ, V. B. **Produção e qualidade de frutos da limeira “Tahiti” irrigada com diferentes frequências e lâminas de água**. Viçosa, 2007.94p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa.

BRITO, A. **Relatório final de consultoria agroindústria de polpa de frutas**. Recife, 2011. Disponível em: <http://www.prorural.pe.gov.br/downloads/pesquisa.pdf> Acesso em: 31 de março de 2013.

BRUNINI, M. A.; DURIGAN, J. F.; OLIVEIRA, A. L. de.; Avaliação das alterações em polpa de manga ‘Tommy-Atkins’ congeladas. **Revista Brasileira Fruticultura**. Jaboticabal - SP, v. 24, n. 3, p. 651-653, dezembro. 2002.

BRUNINI, M. A.; OLIVEIRA, A. L.; VARANDA, D. B. Avaliação da qualidade de polpa de goiaba ‘Paluma’ armazenada a- 20°C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 394-396, 2003.

BUENO,S. M.; LOPES, M. R. V.; GRACIANO, R. A. S.; FERNANDES, E. C. B.; GARCIA-CRUZ, C. H. Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas. **Revista Instituto Adolf Lutz**, São Paulo, v 61, n. 2, p. 121-126, 2002.

BRIGHENTI, D. M.; CARVALHO, C. F.; BRIGHENTI, C. R. G.; CARVALHO, S. M. Inversão da sacarose utilizando ácido cítrico e suco de limão para preparo de dieta energética de *Apis mellifera* LINNAEUS, 1758. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v. 35, n.2, p. 297-304, mar./abr., 2011.

BURDURLU, H. S.; KOCA, N.; KARADENIZ, F. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. **Journal of Food Engineering**, v.74, p.211-216, 2006.

CALDAS, Z. T. C.; ARAÚJO, F. M. M. C.; MACHADO, A. V.; de Almeida, A. K. L.; Alves, F. M. S. Investigação de qualidade das polpas de frutas congeladas comercializadas nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte. **Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)**. v.5, n.4, p. 156 -163 outubro /dezembro de 2010.

CAMARGO, L. A.; DENTILLO, D. B.; CARDELLO, L.; GATTÁS, E. A. L. de. Utilização de bagaço de laranja na produção de pectinases de *Aspergillus* sp. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v. 16, n. 2, p. 153-156, abr./jun. 2005.

CAMPOS, C. M. T.; BENEDET, H. D. Aceitabilidade de bombons (sabor passa ao rum)-recheios adicionados de proteína de soja. **Boletim SBCTA**, v. 28, n.2, p. 113-119, 1994.

CARNEIRO, J. C. S. **Processamento industrial de feijão e avaliação sensorial, descritiva e mapa de preferência**. 2001. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

CARNEIRO, J. C. S.; MINIM, V. P. R.; de SOUZA Jr, M. M.; CARNEIRO, J. E. S.; ARAÚJO, G. A. A. Perfil sensorial e aceitabilidade de cultivares de feijão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 18-24, jan/mar. 2005.

CARVALHO, V. D.; NOGUEIRA, D. J. P. Qualidade, maturação e colheita dos citros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 5, n. 52, p.62-67, 1979.

CARVALHO V. D. Qualidade e conservação pós-colheita de goiaba. **Informe Agropecuário**, v 17, n.179, p. 48-54, 1994.

CARVALHO, A. V. **Otimização dos parâmetros tecnológicos para produção de estruturados de frutas funcionais a partir de polpa de açaí e “mix” de taperebá com mamão**. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA, 2007. 52p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 306).

CARVALHO, F, de.; Indução de estruturas esféricas ou similares durante a cristalização da água por processos físicos ou químicos. **Ciência Agrotécnica**. v.31. n.3. Lavras, mai/jun. 2007.

CASTRO, M. R. S. **Cinética da degradação do ácido ascórbico em polpas de frutas congeladas in natura**. Recife, 2005.89p. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2 ed. Editora: Unicamp, 2003. 212 p.

CEPEDA, E.; VILLARÁN, M. C. Density and viscosity of Malus floribunda juice as a function of concentration and temperature. **Journal of Food Engineering**. v.41, n.2, p.103-107, 1999.

CHAVES, M. C. V.; GOUVEIA, J. P. G.; ALMEIDA, F. A. C.; LEITE, J. C. A.; SILVA, F. L. H. Caracterização físico-química do suco de acerola. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, São Paulo, v.4, n.2, 2º semestre. 2004.

CHEFTEL, J. C.; CHEFTEL, H. Pardeamento no Enzimático. In: - **Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1992, 333p. v. 1, p. 309-318.

CHITARRA, M. I. F. Colheita e qualidade pós-colheita de frutos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.179, p. 8-18, 1994.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manejo. 2.ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CHOI, Y.; OKOS, M. R. Effects of temperature and composition on the thermal properties of the foods. **Foods engineering and Process Application, Transport Phenomenon**, v. 1, p.93-101, 1986.

CIABOTTI, E. D.; BRAGA, M. E. D.; Mata, M. E. R. M. C. Alterações das propriedades físico-químicas do suco de maracujá amarelo submetido a diferentes técnicas de congelamento inicial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.2, n.1, p.51-60, 2000.

COLLA, L. M.; PRENTICE-HERNANDEZ, C. Congelamento e Descongelamento: Sua Influência sobre os Alimentos. **Vetor**, Rio Grande, v.13, n. 53, p. 53-66, 2003. Disponível em: <http://www.seer.furg.br/ojs/index.php/dqm/article/viewFile/428/109>. Acesso em: 24 de fevereiro de 2012.

CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA – CRQ. 2008. **Microbiologia de Alimentos**. Disponível em: www.crq4.org.br/sms/files/file/microbiologia2_alimentos_2008. Acesso em: 03 de Julho de 2013.

CORDENUNSI, B. R.; NASCIMENTO, J. R. O.; LAJOLO, F. M. Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. *Food Chemistry, Barking*, v. 83, n.2, p. 167-173, 2003.

CORDEIRO, C. A.; MARTINS, M. L. L. Produção de poligalacturonase, pelo termofílico *Bacillus sp.* e algumas de suas propriedades. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n.1, p. 135-141, jan./mar. 2009.

COURI, S. **Efeito de cátions na morfologia do agregado e na produção de poligalacturonase por *Aspergillus niger* mutante 3T5B8**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. 1993.

COSTA, L. Qualidade pós-colheita de citros. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n.80, p.45-51, 1994.

DANIELI, F.; COSTA, L. R. L.G, SILVA, L. C.; HARA, A. S. S.; SILVA, A. A. Determinação de vitamina C em amostras de suco de laranja in natura e amostras comerciais de suco de laranja pasteurizado e envasado em embalagem Tetra Pak. **Revista do Instituto de Ciência da Saúde**. Campinas, v. 27, n. 4, p. 361-5, 2009.

DANTAS JÚNIOR, E. E. ; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIREDO, R. M. F. Determinação e elaboração de modelos de predição da massa específica da manga espada. **Revista Educação Agrícola Superior**, v. 22, n.1, p. 39-42, 2007.

DANTAS, R. L. de; ROCHA, A, P. T.; ARAÚJO, A. S. dos; RODRIGUES, M. S. A.; MARANHÃO, T. K. L. Perfil da qualidade de polpas de fruta comercializadas na cidade de Campina Grande-PB. **Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)**, v.5, n.5, p.61-66 (Numero Especial) dezembro de 2010.

DAKHMOUCHE, S. D.; AOULMI, Z. G.; BENNAMOUN, Z. M. Application of a statistical design to the optimization of culture medium for α -amylase production by *Aspergillus niger* ATCC 16404 grown on orange waste powder. **Journal of Food Engineering**, v. 73, n. 2, p. 190-197, 2006.

DODD, J. W., TONGE, K. H. **Thermal Methods**. London, John Wiley & Sons, 1987, 337p.

DURIGAN, M. F. B.; MATTIUZ, B.; DURIGAN, J. F. Injúrias mecânicas na qualidade pós-colheita de lima ácida Tahiti armazenada sob condição ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 27, n.3, p.369-372, 2005.

DUTCOSKY, S. **Análise Sensorial de Alimentos**. Ed. Champagnat, 3 ed., 2011.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2013. Disponível em: [http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/0000001356Lima Mundo 2011.pdf](http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/0000001356Lima%20Mundo%202011.pdf). Acesso em: 10 de Março de 2013.

EPAMIG – Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, 2011. Disponível em: <http://minasempauta1.wordpress.com/2011/06/28/epamig-realiza-dia-de-campo-sobre-cultivo-de-lima-tahiti-em-mocambinho/>. Acesso em: 12 de Março de 2013.

EVANGELISTA, R. M.; VIEITES, R. L. Avaliação da qualidade de polpa de goiaba congelada, comercializada na cidade de São Paulo. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v.13, n.2, p.76-81, 2006.

FAWOLE, O. B.; ODUNFA. S. A. Some factors affecting production of pectin enzymes by *Aspergillus niger*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.52, n.4, p.223-227, 2003.

FELLOWS, P. Tecnologia Del processado de los alimentos: principios y prácticas. **Zaragoza** – Espanha: Editorial Acribia, 2000.

FENNEMA, O.R; POWRI, W.D.; MARTH, E.H. **Low temperature preservation of foods and living matter**. New York: Marcel Decker, 1973.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S. S.; PARKIN, K. **Química de Alimentos**, 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900p.

FERNANDES, T. N.; RESENDE, J. V.; CRUVINEL, R. S. R.; RENO, M. J. Relação entre o comportamento reológico e a dinâmica do congelamento e descongelamento de polpa de morango adicionada de sacarose e pectina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n.1, p.188-204, jan.-mar. 2010.

FERREIRA, G. M.; GUIMARÃES, M. J. O. C.; MAIA, M. C. A. Interações sinérgicas entre polpa de fruta e polissacarídeos em cisalhamento estacionário e dinâmico. In: ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 9, 2007, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Editora TecArt, 2007. p. 654-660.

FERREIRA, R. M. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, P. A.; QUEIROZ, R. F.; FILHO, F. S. T. P.; Ponto de colheita da acerola visando à produção industrial de polpa. **Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)** v.4, n.2, p.13-16 abril/junho de 2009.

FLINT, A. L.; FLINT, L. E. Particle density. In: DANE, J. H; TOPP, G. C. **Methods of soil analysis: part 4 – physical methods**. Madison: American Society of America, p.229-240, 2002.

FRUTIFATOS. **Produtor, prepare-se: o consumidor quer mais**. Brasília: Ministério da Integração Nacional, 2002. v.2. n.2. 64p.

FONTANA, R. C.; SALVADOR, S.; SILVEIRA, M. M. Efeito das concentrações de pectina e glicose sobre a formação de poligalacturonases por *Aspergillus niger* em meio sólido. In: XV SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 2005, Recife. **Anais**. CD.

GABAS, A. L.; MENEGALLI, F. C. Cinética de degradação do ácido ascórbico em ameixas liofilizadas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.2, p.66-70, dezembro, 2003.

GALIOTOU-PANAYOTOU, M. P. R.; KAPANTAI, M. Enhanced polygalacturonase production by *Aspergillus niger* NRRL-364 grown on supplemented citrus pectin. **Letters Applied Microbiology**. 17, 145–148, 1993.

GAVA, A. J. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo, Nobel: 1984.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FARIAS, J. R. G. **Tecnologia de Alimentos Princípios e Aplicações**. Nobel, p. 26-93, 2007.

GEANKOPLIS, C. J. **Processos de transporte y operaciones unitárias**. 3 ed. México: Continental, 1998. 1008p.

GEORGE, R. M. Freezing Processes Used in the Food Industry. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 4, n. 5, p. 134-138, 1993.

GOES, T. S.; CARMO, J. S.; BRAGA, T. R.; MARIA, M.; OLIVEIRA, T.; SILVA, L. R.; TORRES, L. B. V. Caracterização física e físico-química de frutos do limão “Tahiti” (*Citrus latifolia* T.) cultivados em Guaraciaba do Norte-CE. **Revista Cultivando o Saber**, Cascavel, v.5, n.3, p.14-21, 2012.

GONÇALVES, L. C. Reciclagem das cascas da laranja pera na produção de suplemento alimentar de fibras solúveis (pectina). In: **21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, João Pessoa, PB: ABES, 2001.

GONÇALVES, G. A. S.; VILAS BOAS, E. V. B.; RESENDE, J. V. de.; MACHADO, A. L. L.; VILAS BOAS, B. M. Qualidade do pequi submetido ao cozimento após congelamento por diferentes métodos e tempos de armazenamento. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.5, p. 581-588, set/out, 2010.

GOUVEIA, D. S.; MATA, M. E. R. M. C.; DUARTE, M. E. M.; UGULINO, S. M. P. Avaliação físico-química e teste de aceitação sensorial do suco de pinha e do blend pinha-leite. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.8, n.2, p.127-133, 2006.

GRUDA, Z.; POSTOLSKI, J. **Tecnologia de La congelación de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1986. 631p.

HELDMAN, D. R. Factors influencing food freezing rates. **Food Technology**, v.3, n.2, p.103-109, april. 1983.

IBGE. **Lavouras permanentes**. Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Acesso em 26 outubro 2010.

IBRAF - Instituto Brasileiro de Frutas. Estatísticas. São Paulo, 2007. Disponível em:http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp Acesso em: 01 outubro 2010.

INCROPERA, F. P.; DeWITT, D. P. **Fundamentos de Transferência de Calor e Massa**. 5ª edição, LTC – Livros Técnicos e Científicos S.A., Rio de Janeiro, Brasil, 698p. 2003.

IZIDORO, D. R., SIERAKOWSKI, M. R., DEMCZUK J. R. B.; HAMINIUK, C. W. I., SCHEER, A. P. Avaliação sensorial de emulsão adicionada de polpa de banana (*Musa ssp*) verde. ISBN: 978-85-60299-00-3. Página 794. In: XX CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS: ALIMENTOS E AGROINDÚSTRIAS BRASILEIRAS NO CONTEXTO INTERNACIONAL. **Anais de Resumos**. Curitiba, PR, 2006.

JAMES, B. Advances in “wet” electron microscopy techniques and their application to study of food structure. **Trends in Food Science and Technology**, v.20, n.3, p.114-124, 2009.

JOMORI, M. L. L. **Resistência de lima ácida Tahiti à baixa temperatura: tratamentos térmicos e envolvimento do etileno**. 2005.169p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba, 2005.

KASHYAP, D. R.; VOHRA, P. K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Bioresource Technology**, v.77, n.3, p. 215-227, 2001.

KENNEDY, J. F.; RIVERA, Z. S.; LLOYD, L. L.; WARNER, F. P; JUMEL, K. L. Ascorbic acid stability in aseptically processed orange juice in Tetra Brick cartons and the effect of oxygen. **Food Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 327 – 331, 1992.

KEPLER, R.; FAIR, T. **Estudo da competitividade da indústria de polpa de frutas baiana**. Bahia, 2008. Disponível em: <http://www.revistas.unifacs.br/index.php/sepa/ar...> Acesso em: 17 de novembro de 2010.

KLEEBERG, F. **Estudo comparativo dos parâmetros termodinâmicos e da cinética de congelamento de filé de pescada (*Cynoscion petranus*) cru e cozido**. 1995. 126p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos/UNICAMP, Campinas – SP.

KIRCHHOF, S. C.; CRIZEL, G. R.; MENDONÇA, C. R. B. Efeito do pré-tratamento e do método de congelamento na estrutura de floretes de couve-flor. **XVII CIC (Congresso de iniciação científica) ; X ENPOS (Encontro de Pós Graduação)**. Universidade Federal de Pelotas –RS, 2008.

LANZILLOTTI, R. S.; LANZILLOTTI, H. S. Análise sensorial sob o enfoque da decisão *fuzzy*. **Revista de Nutrição**, v.12, n.2, Campinas may/aug. 1999.

LAMB, J. Influence of water on the thermal properties of foods. **Chemistry and Industry**, v.24, p.1046-1048, 1976.

LEE, H. S.; NAGY, S. Relationship of sugar degradation to detrimental changes in citrus juice quality. **Food Technology**, v. 42, n. 11, p. 91-94, 97, 1988.

LEWIS, M. J. **Propriedades de los alimentos y de los sistemas de processado**. Zaragoza: Acribia, 494p.1993.

LIDON, F.; SILVESTRE, M. **Conservação de Alimentos - Princípios e Metodologia**. Lisboa: Escolar Editora, 2008.

LIMA, I. J. E.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F. Propriedades termofísicas da polpa de umbu. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.5, n.1, p.31-42, Campina Grande, 2003.

LOPES, A. S.; MATTIETTO, R. A. de.; MENEZES, H. C. de. Estabilidade da polpa de pitanga sob congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p. 553-559, jul.-set. 2005.

LOUSADA Jr, J. E.; NEIVA, J. N. N.; RODRIGUEZ, N. M.; PIMENTEL, J. C. M. P.; LÔBO, R. N. B. Consumo e digestibilidade de subprodutos do processamento de frutas em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.2, p.659-669, 2005.

LOZANO, J. E. Fruit Manufacturing Scientific Basis, Engineering Properties, and Deteriorative Reactions of Technological Importance. Springer Science Business Media, LLC. Bahia Blanca Argentina, 2006.

MA, C. Y.; HARWALKAR, V. R.; MAURICE, T. J. Instrumentation and techniques of thermal analysis in food research. In: HARWALKAR, V. R & MA, C. Y., ed. Thermal analysis of foods. London, Elsevier, 1990. Cap. 1, p. 1-15.

MACEDO, J. A. B. **Métodos laboratoriais de análise físico-químicas e microbiológicas águas e águas**. Juiz de Fora, p. 01-52, 2001.

MACHADO, T. V. **Avaliação sensorial e físico-química do suco de laranja proveniente das etapas do processamento do suco concentrado e congelado**. 2010. 117p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Universidade Estadual Paulista. Araraquara – SP.

MAIA, M. L. 1996. Produção e comercialização das frutas cítricas no Brasil. **Agricultura em São Paulo**, v.43, n.1, p.1-42, 1996.

MALGARIM, M. B.; FLORES CANTILLANO, R. F.; OLIVEIRA, R. P.; TREPTOW, R. O. Qualidade pós-colheita de citros ‘Nova’ em diferentes períodos de armazenamento e comercialização. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.14, n.1, p.19-23, jan/mar, 2008.

MALVESSI, E.; SILVEIRA, M. M. Influence of Medium Composition and pH on the production of polygalacturonases by *Aspergillus oryzae*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.5, p.693-702, 2004.

MARÍN, F.R.; MARTINEZ, M.; URIBESALGO, T.; CASTILLO, S; FRUTOS, M.J. Changes in nutraceutical composition of lemon juices according to different industrial extraction systems. **Food Chemistry**, v. 78, p. 319-324, 2002.

MARTÍ, J.; AGUILERA, J. M. Efecto de la velocidad de congelación en las características mecánicas y microestructurales del arándano y de la mora silvestre. **Revista Agroquímica Tecnológica Alimentar**, Valencia, v.31, n.4, p.493-504, abr. 1991.

MARTIN, N. **Isolamento de linhagens fúngicas termofílicas produtoras de pectinases termoestáveis: produção, caracterização e purificação parcial das poligalacturonase**. 2006. 65f. Dissertação (Ciências Biológicas – Microbiologia Aplicada) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro.

MARTIN, N.; GUEZ, M. A. U.; SILVA, R.; GOMES, E. Utilização de resíduos agroindustriais em fermentação em estado sólido (FES) para avaliar a produção de poligalacturonase (PG) pelo fungo termofílico *Rhizomucor* SP N31. In: XVI SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 2007, Curitiba. **Anais...** Curitiba:____, 2007. CD.

MARTIN, R. E.; FLICK, G. J.; HEBARD, C. E.; WARD, D. R. **Chemistry and biochemistry of marine food products**. Westport: AVI, 1982.

MARTINS, E. S.; SILVA, D.; SILVA, R. D.; GOMES, E. Solid state production of thermostable pectinases from thermophilic *Thermoascus aurantiacus*. **Process Biochemistry**, v.37, p. 949-954, 2002.

MARTÍNEZ LEE, L. **Determinação do calor específico do xisto da Formação Irati e do xisto de New Brunswick, usando o calorímetro de varredura diferencial DSC-50.** 2001. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Universidade Estadual de Campinas.

MATA, M. E. R. M. C.; BRAGA, M. E. D.; SILVA, M. da. Curvas de congelamento de frutos de cajá (*Spondias lútea* L.) a temperaturas semi-criogênicas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, Especial, n.1, p.55-62, 2003.

MATA, M. E. R. M. C.; DUARTE, M. E.; ZANINI, H. L. H. T. Calor específico e densidade da polpa de cajá (*Spondias lútea* L.) com diferentes concentrações de sólidos solúveis sob baixas temperaturas. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.488-498, maio/ago. 2005.

MATOS, R. A. **Desenvolvimento e mapa de preferência externo de bebida láctea à base de soro e polpa de graviola (*Annona muricata*).** 2009. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga.

MENDONÇA, L. M. V. L.; CONCEIÇÃO, A.; PIEDADE, J.; CARVALHO, V. D.; THEODORO, V. C. A. Caracterização da composição química e do rendimento dos resíduos industriais do limão tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n.4, p. 870-874, out.- dez. 2006.

MENEZES, G. D. G. de.; OLIVEIRA, A. C. P. de.; DAMASO, M. C. T.; OLIVEIRA, M. A. C. L. de.; COURI, S. Produção de poligalacturonase pela linhagem *Aspergillus niger* mutante 3t5b8 em fermentação semi-sólida utilizando como substrato resíduo de maracujá e farelo de trigo. **Revista Universitária Rural, Série Ciências Exatas e da Terra**. Seropédica, RJ, EDUR, v. 25, n. 1, p. 15-27, 2006.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic AID reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v.31, p. 4266-4268, 1959.

MOHSENIN, N. N. **Physical proprieties of plant and animal materials**. New York: Gordon and Breach Science Publishers, 1978. 734 p.

MONTEIRO, M. A. M. Percepção sensorial dos alimentos em idosos sensory perception of foods in the elderly. **Revista Espaço para a Saúde**, Londrina, v. 10, n. 2, p. 34-42, jun. 2009.

MORAES, I. Dossiê técnico: **Produção de polpa de fruta congelada e suco de frutas**. Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro, Outubro. 2006. Disponível em: <http://www.respostatecnica.org.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MTE3> . Acesso em: 26 novembro. 2012.

MOURA, S. C. S. R., FRANÇA, V. C. L., LEAL, A. M. C. B. Propriedades termofísicas de modelos similares a sucos – parte I, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, n.1, p. 62-68, jan/abr, 2003.

MUNIZ, M. B.; QUEIROZ, A. J. M.; FIGUEIREDO, R. M. F. de.; DUARTE, M. E. M. Caracterização Termofísica de Polpas de Bacuri. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.26, n.2, abr./jun. 2006.

NASCENTE, A. S. **Aproveitamento de subprodutos de frutas**. Embrapa Rondônia, 2003.

NEVES FILHO, L. C. **Resfriamento, congelamento e estocagem de alimentos**. São Paulo - SP: IBF/ ABRAVA/ SINDRATAR, 1991. 176p.

NEVES FILHO, L. C. **Refrigeração e Alimentos**. Campinas: IBF, 1997. 354p.

NEVES, L. C.; BENEDETTE, R. M.; SILVA, V. X. da ; VIEITES, R. L. ; Roberto, S. R. Dano de frio em limas ácidas Tahiti, cultivadas em diferentes épocas e submetidas a tratamento térmicos e bioquímicos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.377-384, 2008.

NEVES, M. F.; NEVES, E. M.; JANK, M. S.; LOPES, F. F.; AMARO, A. A.; TROMBIN, U. G. **Caminhos para a citricultura: uma agenda para manter a liderança mundial**. São Paulo: Editora Atlas, 2007.114p.

NEVES, M. F.; JANK, M. S. **Perspectivas da cadeia produtiva de laranja no Brasil: A Agenda 2015**. São Paulo, 23 Nov. 2006. Disponível em: http://www.fundacaofia.com.br/pensa/downloads/Agenda_Citrus_2015_PENS_AICONE. Acesso em: 21 outubro 2010.

OLIVEIRA, M. E. B. de; BASTOS, M. do S. R.; FEITOSA, T.; BRANCO, M. A. de A. C.; SILVA, M. das G. G. da. Avaliação de parâmetros de qualidade físico-químicos de polpas congeladas de acerola, cajá e caju. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 3, set./dez., p. 326-332, 1999.

OLIVEIRA, A. F. **Análise sensorial dos alimentos**. Londrina: UTPF-CTA, 2010.65p. Disponível em: <http://www.ebah.com.br>. Acesso em: 06 mar.2013.

ORDÓNEZ, J. A. O.; RODRIGUEZ, M. I. C.; ALVAREZ; L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILÓN, F. G. G.; PERALES, L. L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de Alimentos**. Volume I: Componentes dos alimentos e processos. Editora Artmed, Porto Alegre, 2005.

PANAROTTO, C. C.; MALVESSI, E.; SILVEIRA, M. M. Avaliação de cascas de limão Tahiti como fonte de indutor na produção de poligalacturonase por *Aspergillus niger* em estado sólido. In: XIV SIMPÓSIO NACIOANAL DE FERMENTAÇÕES, 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis_, 2003.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**. v.13, n. 2, p.81-84, 2003.

PARK, K. J.; ANTONIO, G. C. **Análises de materiais biológicos**. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. FACULDADE DE ENGENHARIA AGRÍCOLA. 2006. Disponível em: www.feagri.unicamp.br/ctea/manuais/analise_matbiologico.pdf Acesso em: 24 de abril 2013.

PEDRÃO, M. R.; BELEIA, A.; MODESTA, R. C. D.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Estabilidade físico-química e sensorial do suco de limão Tahiti natural e adoçado, congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.2, p.45-52, Campinas. 1999.

PEREIRA, D. **Importância da Cadeia de Frio na Segurança Alimentar de Produtos Congelados e Refrigerados**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Segurança Alimentar). Escola Superior Agrária de Coimbra em Engenharia e Segurança Alimentar. 2011.

PEREIRA, A. C. S. da. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante total de frutas tropicais e cítricas produzidas no Ceará**. 2009. 122p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará. 2009.

PEREIRA, E. A.; QUEIROZ, A. J de M.; FIGUEIRÊDO, R. M. F. de. Massa específica de polpa de açaí em função do teor de sólidos totais e da temperatura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 6, n. 3, p. 526-530, set./dez. 2002.

PEREIRA, J. M. A.T.K.; OLIVEIRA, K. A M.; SOARES, N. F. F.; GONÇALVES, M. P. J. C.; PINTO, L. O.; FONTES, E. A. F. Avaliação da qualidade físico-química, microbiológica e microscópica de polpas de frutas congeladas comercializadas na

cidade de Viçosa-MG. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara v.17, n.4, p.437-442, out./dez. 2006.

PEREIRA, C. G. **Propriedades termofísica e comportamento reológico de polpa de acerola em diferentes concentrações e temperaturas**. 2013. 135p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras – MG.

PINHEIRO, A. M. et al. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais: abacaxi, caju e maracujá. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, jan/mar 2006.

PIO, R. M. Estudo de variedades do grupo das tangerineiras: caracterização e avaliação dos frutos. Piracicaba: ESALQ/USP, 1997. 89p. Tese (Doutorado em Fitotecnia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP.

QUEIROZ, M. I.; TREPTOW, R. de O. **Análise Sensorial para a Avaliação da Qualidade dos Alimentos**. Rio Grande: Ed. da FURG, p. 268, 2006.

RAMOS, A. M.; IBARZ, A. Density of juice and fruit puree as a function of soluble solids content and temperature. **Journal of Food Engineering**. v. 35, n.1, p. 57-63, 1998.

RANGANA, S. **Manual of analysis of fruit and vegetable products**. New Delhi: Tta McGraw – Hill, Publishing Company Limited, p. 94-95, 1979.

RAMASWAMY, H. S.; Tung, M. A. Thermophysical properties of apples in relation to freezing. **Journal Food Science**. v.46, n.3, 24-728. 1981.

RENAUD, T.; BRIERY, P.; ANDRIEU, J.; LAURENT, M. Thermal Properties of food materials in the frozen state. **Journal of Food Engineering**, v. 15, p. 83-97, 1992.

RENO, M. J.; PRADO, M. E. T.; RESENDE, J. V. de. Mudanças microestruturais de morangos congelados submetidos à pré-tratamentos com aditivos e impregnação a vácuo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.31, n.1, jan./mar. 2011.

RESENDE, J. V.; SILVEIRA Jr., V. Medidas da condutividade térmica efetiva de modelos de polpas de frutas no estado congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.2. p 177-183, maio/ago. 2002.

RESENDE, J. V.; SILVEIRA Jr., V. Escoamento de ar através de embalagens de polpa de frutas em caixas comerciais: Efeitos sobre os perfis de velocidade em túneis de congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 184-191, 2002b.

RESENDE, J. V.; CAL-VIDAL, J. Frutos de melão submetidos à pré tratamentos com hidrocolóides: Efeitos do processo de congelamento sobre a microestrutura celular. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.3, p. 295-304, set. /dez. 2002.

ROCHA, O. F. L.; SIQUEIRA, C. A.; GARCIA, A.; Heat Flow Parameters Affecting Dendrite Spacings During Unsteady State Solidification of Sn-Pb and Al-Cu Alloys. **Metallurgical and Materials Transactions A**, v.34, p. 995-1006, 2003.

ROÇA, R. O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Botucatu: UNESP, 1999. 201p.

ROMOJARO, F.; RIQUELME, F. Critérios de calidad del fruto. Câmbios durante la maduración. Identificación de critérios no destructivos. In: CALIDAD POST-COSECHA Y PRODUCTOS DERIVADOS EN FRUTOS DE HUESO. **Actas** del seminário celebrado en la Fira de Lleida. p.55-78, 1994.

SANTI, L. **Produção, caracterização e aplicação de preparados pectinolíticos produzidos por *Penicillium oxalicum* utilizando resíduos agroindustriais**. 2005.

Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Centro de Biotecnologia da UFRGS. Porto Alegre – RS.

SANTIAGO, A. M.; ANJOS, D. A. dos.; ALCÂNTARA, S. R.; CONRADO, L. S. Aproveitamento da casca do umbu seca na produção de pectinases por *Aspergillus niger* em cultivo semissólido. In: XVIII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 24 a 27 de 2011, Caxias do Sul. **Anais...** Rio Grande do Sul/RS, 2011. CD- Rom.

SANTIAGO, A. M.; SOUSA, C. A. B.; OLIVEIRA P. L.; CONRADO, L. S. O. Aplicação da metodologia de superfície de resposta no estudo da extração da poligalacturonase obtida pela fermentação semi-sólida da casca do umbu desidratada. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA, 09-12 de Setembro 2012, Búzios/RJ. **Anais...**Búzios/RJ, 2012. CD-ROM.

SANTOS, A. R. L. dos. **Qualidade pós-colheita de acerola para o processamento em função de estádios de maturação e condições de armazenamento.** 1997. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) Escola de Agronomia, Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas.

SANTOS, F. A.; SALLES, J. R. J.; CHAGAS FILHO, E. ; RABELO, R. N. Análise qualitativa das polpas congeladas de frutas produzidas pela SUFRUTS, MA. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 119, p. 14-22, 2004.

SANTOS, S. F. M. **Estudo da produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato.** 2007. 130f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio grande do Norte – RN, 2007.

SANTOS, A. A. O.; SILVA, I. V. C.; SANTOS, J. P. A. dos.; SANTANA, D. G.; ALMEIDA, M. L.; MARCELLINI, P. S. Elaboração de biscoitos de chocolate com substituição

parcial da farinha de trigo por polvilho azedo e farinha de albedo de laranja. **Ciência Rural**, v.41, n.3, mar, 2011.

SCAPIARI, A.C.; FERNANDES, M. H.; POLINTO, B. J. Caracterização do suco de limão galego (*Citrus aurantifolia*) produzido em três localidades da cidade de Limoeiro do Norte – CE. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n.3, p. 62-66, 2008.

SEBASTIANY, E.; MOURA, E. R. de.; RÊGO, E. R. do.; VITAL, M. J. S. Perda de vitamina C durante o armazenamento de acerola congelada. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 27, n. 2, p.281-288, jul/dez. 2009.

SEBRAE-MG. **Para início de negócio**, 2007. Disponível em: http://www.sodineiro.info/ideias-de-novos-negocios/ideias-de-novos-negocios_fabrica-de-polpa-de-frutas.php. Acesso em: 20 de fevereiro de 2012.

SERAFIN, L. C. **Implementação da Ferramenta “Boas Práticas de Fabricação” na Produção de Polpas de Fruta**. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal do Rio de Janeiro -RJ.

SILVA, S. B. **Propriedades Termofísicas de Polpa de Abacaxi**. 1997. 93f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos** (Métodos químicos e biológicos). Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 166p.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo, Varela, 2000, 227p.

SILVA, F. C. da.; GUIMARÃES, D. H. P.; GASPARETTO, C. A. Reologia do suco de acerola: Efeito da concentração e temperatura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.25, n.1, p. 121-126, jan.-mar. 2005.

SILVA, N. M. C. **Propriedades termofísicas e comportamento reológico da polpa de jenipapo (genipa americana. I.)**. 2008. 56p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.

SILVA, P. R.; ALMEIDA, G. V. B.; FERRAZ, M.; OLIVETTE, M. P. A. O Mercado de Lima Ácida Tahiti. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, v.3, n.12, dezembro 2008.

SILVA, I. C. V.; SANTOS, A. A. O.; MARCELLINI, P. S.; SANTANA, D. G.; BARBOSA, R. de A.; SANTOS, J. P. A. dos; CASTRO, A. de A. Caracterização físico-química de farinha elaborada a partir do albedo de laranja (*Citrus sinensis*), variedade Pera. In: IV CONGRESSO LATINO AMERICANO; X CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 2009, Florianópolis. **Resumo expandido...** Florianópolis: Revista Higiene Alimentar, v. 23, n.3, p. 170-171. 2009.

SILVA, V. K. L. da.; FIGUEIREDO, R. W. de.; BRITO, E. S. de.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; FIGUEIREDO, A. T. de. Estabilidade da polpa do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) congelada por 12 meses. **Ciência Agrotécnica**, v.34, n.5, Lavras, set./out. 2010.

SIMÕES, M. R. **Propriedades termofísicas da polpa de manga**. 1997. 72 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas.1997.

SINGH, R. P. Thermal diffusivity in food processing. **Food Technology**, Chicago, v. 36, n. 2, p. 87-91, 1982.

SKOOG, D. A.; LEARY, J. J. **Principles of Instrumental Analysis**. 4^a ed. Saunders: New York, 1992. 571p.

SOARES, D. S. C.; SANTOS, J. T. S.; CAMPOS, A. F. P.; COSTA, F. S. C.; NUNES, T. P.; JÚNIOR, A. M. O. Avaliação do tempo de congelamento da mangaba (*Hancornia Speciosa* Gomes) em ultrafreezer através dos modelos matemáticos de Planck e Pham. **Scientia Plena**, v. 8, n.4. 2012.

SOARES, L. L.; NOIA, P. R. C.; SOUZA, J. F. de.; PRADO, A. A. O. S. Caracterização físico-química de pó alimentício oriundo de albedo de limão (*Citrus limon* L.). In: VII CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 2012, Palmas. **Anais...** Palmas_, 2012.

SOLOMON, O.; SVANBERG, U.; SAHLSTROM, A. Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8°C. *Food Chemistry*, v. 53, n. 4, p.363 – 368, 1995.

SOUZA, P. F. C. Avaliação de laranjeiras doces quanto à qualidade de frutos, períodos de maturação e resistência a *Guignardia citricarpa*. **2009. 89p. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.**

SOUZA, C. A. B. **Recuperação de poligalacturonases produzidas pela fermentação semi-sólida do resíduo agrícola do maracujá amarelo empregando sistema aquoso bifásico**. 2010. 97f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Campina Grande – PB, 2010.

SOUZA, D. de.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Seleção de metodologia para o estudo das propriedades físicas de sucos e polpas de pequenas frutas – amora, framboesa, morango e mirtilo. In: VI OKTOBER FÓRUM - PPGEQ. Universidade

Federal do Rio Grande do Sul, 2007. Disponível em: <http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/11210/000608407.pdf?sequence=1>. Acesso em: 26 de abril 2013.

SOUZA, M. A. **Determinação das propriedades termofísicas de polpas de frutas tropicais: jaca (*Artocarpus Heterophilus Lamk.*) e umbu (*Spondias Tuberosa Arr. Cam.*)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB - Campus de Itapetinga. 2008.

SOUZA, R. L. A.; CONRADO, L. S.; SILVA, F. L. H.; AMORIM, B. C. Caracterização da poligalacturonase produzida por fermentação semi-sólida utilizando-se resíduo do maracujá como substrato. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.14, n.9, p.987-992, 2010.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3ª ed., New York: Academic Press. 2004. 408p.

TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. 4ª. ed. revisada e ampliada: Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

TAVARES, V. B; SIVIÉRI, K; CERON, C. R; SILVA, R; TRABUCO, E. Utilização de resíduo líquido de indústria de processamento de suco de laranja como meio de cultura de *Penicillium citrinum* : depuração biológica do resíduo e produção de enzima. **Revista Química Nova**, v.21, n.2, p.722-725.1998.

TANSAKUL, A.; LUMYONG, R. Thermal properties of straw mushroom. **Journal of Food Engineering**, v.87, n.1, p.91-98, 2008.

TELIS-ROMERO, J.; TELIS, V. R. N.; GABAS, A. L.; YAMASHITA, F. Thermophysical properties of Brazilian Orange juice as affected by temperature and water content. **Journal of Food Engineering**, v.38, n.1, p.27-40, 1998.

TODA FRUTA (2009). Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br>> Acesso em 16 mar. 2009.

THEANSUWAN, W.; TRIRATANASIRICHA, K. Air Blast Freezing of Lime Juice: Effect of Processing Parameters. **American Journal of Engineering and Applied Sciences**. v.1. n.1 p.33-39, 2008.

THOMPSON, J. F. Pre-cooling and Storage Facilities. In: USDA. **Agriculture Handbook Number 66 – DRAFT**. United States: Department of Agriculture. (Revised in 2004).

TREVISAN, R., TREPTOW, R. O. GONÇALVES, E. D., ANTUNES, L. E .C., HERTER, F. G. Influência do manejo fitotécnico na qualidade sensorial de pêssegos (*Prunus persica* (L.) Batsch) CV. MACIEL. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.12, n.4, p. 409–414, out–dez, 2006.

TRES, M. V.; BORGES, G. R.; CORAZZA, M. L.; ZAKRZEWSKI, C. A. Determinação da difusividade térmica de alimentos: medidas experimentais e simulação numérica. **PERSPECTIVA**, Erechim. v.35, n.131, p. 43-56, 2011.

TRUCOM, C. **Doce Limão**. São Paulo, 2005. Disponível em: <[htm.www.docelimao.com.br/limaoorigem-variedades](http://www.docelimao.com.br/limaoorigem-variedades)>. Acesso em: 22 de março de 2012.

UEDA, S.; FUJIO, Y.; LIM, J. Y. Production and some properties of pectic enzymes from *Aspergillus oryzae* A-3. **Journal Applied Biochemistry**, v.4, n.6, p.524-532,1982.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: Aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v.30, n.2, p.388-394, 2007.

VIANA, D. S. **Lima ácida (*Citrus latifolia*, Tanaka), cv. Tahiti, de cultivos convencional e orgânico biodinâmico: avaliação da capacidade antioxidante dos sucos in natura e clarificados por membranas de microfiltração**. 2010. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – RJ. 2010.

WANG, N.; BRENNAN, J.G. Thermal conductivity of potato as a function of moisture content. **Journal of Food Engineering**, v. 17, n.2, p. 153-160, 1992.

WATTS, B. M.; YLIMAKI, G. L.; JEFFERY, L. E.; ELIAS, L. G. **Métodos sensoriais básicos para la evaluación de alimentos**. Tradución: Oficina de Traducciones, Secretaria de Estado. Ottawa : Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo, 1992. 170p.

VALADÃO, R. C. **Estudo da fermentação semi-sólida de uma linhagem selecionada de *Aspergillus niger* na produção de inulinase**. 2005. 53f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – UFRRJ, Seropédica – RJ, 2005.

YAMASHITA, F.; BENESSI, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.1, p.92-94, 2003.

ZARITZKI, N. E. Factors affecting the stability of frozen foods. In: KENNEDY, C.J. Managing frozen foods. Cambridge: Wood head Publishing, 2000.

ZIENA, H. M. S. Quality attributes of Bears Seedless lime (*Citrus latifolia*, Tanaka) juice during storage. **Food Chemistry**, v.71, p.167-172, 2000.

ZUECO, J.; ALHAMA, F.; FERNÁNDEZ, C. F. G. "Inverse determination of the specific heat of foods", **Journal of Food Engineering**, v. 64, p. 347-353. 2004

ZURITZ, C. A.; PUNTES, E. M.; PEREZ, E. H.; GÁSCON, A.; RUBIO, L. A.; CARULLO, C. A.; CHERNIKOFF, R. E.; CABEZA, M. S. Density, viscosity and coefficient of thermal expansion of clear grape juice at different soluble solid concentrations and temperatures. **Journal of Food Engineering**, Great Britain, v.71, n.1, p.143-149, 2005.